

DAGNITH LIZ BEJARANO LUJAN

Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

DAGNITH LIZ BEJARANO LUJAN

Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 19 de Fevereiro de 2004

Profa. Maria do Carmo Gouveia
Peluzio
(Conselheira)

Profa. Céphora Maria Sabarese
(Conselheira)

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta

Profa. Josefina Bressan Resende
Monteiro

Profa. Neuza Maria Brunoro Costa
(Orientadora)

À razão de minha existência Francisco e Teodocia .
A Patricia, Carlos e Maritza.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por ser a doce luz que guia minha vida e em quem deposito meus passos e meus dias.

A minha família, que é a razão de minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade oferecida para a realização deste estudo.

A professora Neuza Maria Brunoro Costa, pelos ensinamentos e por sua dedicação e empenho na realização do trabalho. Obrigada pela amizade e compreensão nos momentos difíceis.

A Professora Maria do Carmo Gouveia Pelúzio, por sua atenção e empenho na obtenção do material para o experimento e seu valioso apoio no laboratório.

Ao Professor Sérgio Luís Pinto da Matta, pelos ensinamentos, entusiasmo e compreensão.

A Professora Céphora Maria Sabarense, pelo material bibliográfico e por seu apoio no laboratório.

A Professora Josefina Bressan Monteiro, pela atenção e confiança.

A Professora Lina Enriqueta F. Paez L. Rosado, por permitir assistir suas aulas de diabetes.

Aos funcionários Sr. Adão e José Geraldo, pela grandiosa ajuda prestada na realização do experimento, bem como pela amizade conquistada.

A Nilcemar e Martha, minhas irmãs brasileiras que me brindaram ensinamento, confiança e apoio em cada instante de meu caminhar por este país. Obrigada, meninas, pela magnífica amizade.

A Alda, pela grandiosa ajuda experimental e também pela amizade conquistada.

A Lucía por sua compreensão e ajuda.

Aos amigos: Ingrid, Eliana, André, Kelly, Marcos, Áquila, Lucimar, Érica, Sandra, Viviana, Elaine, Ana Paula, Raquel, Cassiano, João, Emanuele, Abraham, Wilmer, Edwin, Milton. Agradeço-os por sua ajuda e pelos maravilhosos momentos vividos em Viçosa.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

DAGNITH LIZ BEJARANO LUJÁN, filha de Francisco Rosario Bejarano Burgos e Teodocia Eufrosina Luján Cruz, nasceu em 02 de abril de 1971, na cidade de Chimbote, Ancash - Perú.

Em agosto de 1990 iniciou o Curso de Engenharia Agroindustrial na Universidad Nacional del Santa – Chimbote, concluindo-o em dezembro de 1995. Trabalhou na área de controle de qualidade nas empresas Productos Marinos Del Pacífico Sur, Negóciios Agroindustriales - TRADE S. A. e no Laboratório de Análisis Clínico, Biológico e Industrial – LACBI de janeiro de 1996 a dezembro de 1998. Através do Programa Nacional de Asistencia Alimentaria – PRONAA U. O. Chimbote prestou assessoramento nas áreas de armazenagem e controle de qualidade, projetos e apoio à segurança alimentar de julho de 1999 a dezembro de 2001.

Em setembro de 2002 iniciou o Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais – Brasil concluindo em fevereiro de 2004.

RESUMO

LUJAN, Dagnith Liz Bejarano, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2004. **Variedades de feijão e seus efeitos na qualidade protéica, na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos.** Orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa. Conselheiras: Maria do Carmo Gouveia Peluzio e Céphora Maria Sabarense.

O feijão (*Phaseolus vulgaris*) representa uma importante fonte de nutrientes na alimentação do brasileiro. Os fatores antinutricionais presentes no feijão podem reduzir a sua qualidade protéica e, por outro lado, exercer efeitos benéficos na glicemia e nos lipídios sanguíneos. Objetivou-se avaliar a qualidade protéica de diferentes variedades de feijão e seus efeitos na glicemia e nos lipídios sanguíneos em ratos. Com a finalidade de avaliar a qualidade protéica, 42 ratos machos da linhagem Wistar, recém-desmamados, foram divididos em sete grupos experimentais. Um grupo foi mantido em uma dieta livre de nitrogênio por 14 dias e os demais grupos foram alimentados com dietas contendo entre 9 e 10% de proteínas derivadas de caseína ou de uma das cinco variedades de feijão (Ouro Branco, Pérola, BRS Radiante, Diamante Negro e Talismã). O feijão Ouro Branco apresentou maior valor do Coeficiente de Eficiência Protéica (PER relativo = 61,18 %) do que as demais variedades e o feijão BRS Radiante o menor valor (PER relativo = 44,60 %). Quanto à Razão Protéica Líquida (NPR) e digestibilidade, não houve diferença ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey, entre as variedades. O NPR relativo variou de 67,05 a 78,19%

e a digestibilidade de 78,70 a 84,88%. Na avaliação do efeito dos feijões na glicemia, foram utilizadas três variedades de feijão e 80 ratos machos adultos, divididos em dois grupos de 40, sendo que um grupo recebeu tratamento com estreptozotocina e o outro foi mantido como controle. Os grupos, tratado e não tratado, foram subdivididos em 4 lotes de 10 animais para compor as dietas experimentais de caseína (controle), Ouro Branco, Diamante Negro e Talismã (30g/100g dieta, na forma de farinha de feijão cozido e seco), fornecidas por 28 dias. A estreptozotocina foi administrada em 2 dosagens por via intraperitoneal (50mg/kg peso) e uma pela via peniana (25 mg/kg peso). O grupo alimentado com feijão Ouro Branco recebeu somente duas doses. O tratamento com estreptozotocina elevou os níveis de glicose dos ratos em relação ao grupo não tratado, mantendo-se os níveis de hemoglobina glicosilada dentro da faixa de referência para não diabéticos ou diabéticos bem controlados. O feijão Diamante Negro reduziu significativamente ($p < 0,05$) os níveis sanguíneos de triacilglicerol e colesterol total. Concluiu-se que as variedades de feijão exercem efeitos diferenciados na qualidade protéica, glicemia e perfil de lipídios de ratos. O feijão branco (Ouro Branco) apresentou melhor qualidade protéica e o feijão preto (Diamante Negro) o melhor potencial para controle da glicemia e dos lipídios sanguíneos, indicando que a recomendação de consumo de uma determinada variedade de feijão pode ser direcionada às demandas nutricionais ou funcionais da população alvo.

ABSTRACT

LUJAN, Dagnith Liz Bejarano, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2004. **Varieties of beans and its effects on protein quality, blood glucose and lipids in rats.** Adviser: Neuza Maria Brunoro Costa. Committee Members: Maria do Carmo Gouveia Pelúzio and Céphora Maria Sabarense.

Beans (*Phaseolus vulgaris*) represent an important source of nutrients in the Brazilian meals. The antinutrient factors present in the beans may, on one hand, reduce its protein quality and, on the other hand, exert benefic effects on blood glucose and lipids. The objective of the present study was to evaluate the effects of different varieties of beans on protein quality, blood glucose and lipids. For the protein quality assay, 42 weaning male rats of Wistar strain were divided into 7 groups. One group was kept on a protein-free diet, and the remaining were fed diets containing 9 to 10% protein provided either by casein (control) or by one of the 5 varieties of beans (Ouro Branco, Pérola, BRS Radiante, Diamante Negro and Talismã). The Ouro Branco variety showed the highest values for Protein Efficiency Ratio (relative PER = 61.18%) and the BRS Radiante, the lowest one (relative PER = 44.60%). There was no difference ($P < 0.05$) by Tukey test among the varieties in terms of Net Protein Ratio (NPR) and True Digestibility. Relative NPR varied from 67.05 to 78.19% and digestibility from 78.70 to 84.88%. For the analysis of the effect of beans on blood glucose, 80 adult male rats were divided into 2 groups of 40, one group

was treated with streptozotocin and the other was kept as a control. The animals of both treatments were subdivided in 4 groups of 10 and fed their experimental diets containing casein, Ouro Branco, Diamante Negro or Talismã beans (30g/100g of cooked and dried bean flour), for 28 days. Streptozotocin was administered in 2 doses via intraperitoneal (50 mg/kg body weight) and one dose by intravenous injection in the penis vein (25 mg/kg body weight). The group fed Ouro Branco beans received only two doses. Streptozotocin treated groups showed higher glucose levels and normal levels of glycated hemoglobin compared with the non-treated control groups. The Diamante Negro diet reduced significantly ($P < 0.05$) the levels of serum triacylglycerols and total cholesterol. It was concluded that the bean varieties may exert different effects on protein quality, blood glucose and lipid profile in rats. The white variety (Ouro Branco) showed the highest protein quality and the black bean (Diamante Negro) the best potential for blood glucose and lipids control. This indicate that the recommendation for a bean variety intake may be directed to the target population nutritional or functional demands.

ÍNDICE

	Páginas
1. Introdução.....	1
2. Significado Nutricional do feijão e seus efeitos na saúde.....	4
3. Avaliação da qualidade protéica de diferentes variedades de feijão.....	47
4. Efeitos de diferentes variedades de feijão na glicemia e no perfil lipídico em ratos	75
5. Considerações finais.....	108

INTRODUÇÃO

Na América Latina, as leguminosas têm suprido quantidades significativas de energia e proteína para população, sendo o feijão comum um produto de consumo relativamente alto principalmente para pessoas de escassos recursos onde geralmente se encontra desnutrição em graus variáveis (Welch et al, 2002). No Brasil, o feijão é amplamente consumido apesar de haver caído o consumo *per capita* de 19 kg/hab/ano na década de 1990, para 15 kg/hab/ano na presente década (CONAB, 2002). O processo de urbanização e as mudanças nos hábitos alimentares, com maior participação da mulher no mercado de trabalho, seriam os principais responsáveis por esse declínio.

É inquestionável a importância dessa leguminosa como fonte de energia, proteína, vitaminas, minerais e fibras (Kutos et al, 2003). Entretanto, suas proteínas apresentam baixos teores e biodisponibilidade reduzida de aminoácidos sulfurados (Pereira e Costa, 2002). A qualidade protéica é ainda influenciada pela presença de fatores antinutricionais, que podem estar presentes em diferentes teores de acordo com a variedade do feijão. Contudo, efeitos benéficos também têm sido atribuídos para alguns destes nutrientes no tratamento de certas enfermidades como diabetes, doenças cardiovasculares e câncer do cólon. Recomenda-se maior ingestão de grãos para a melhoria da saúde e controle destas doenças (ADA, 2003). Ainda acrescentam que

determinados constituintes do feijão, como fibras, taninos, fitatos e inibidores de amilase, correlacionam-se inversamente com a digestão de carboidratos e resposta glicêmica (Anderson, 1999).

É preocupante o aumento do diabetes em todo o mundo, considerando que de cada 20 mortes, uma é atribuída a essa doença. Segundo previsões da OMS (Organização Mundial da saúde), nos próximos 25 anos o número de diabéticos pode dobrar em todo o mundo, chegando a 370 milhões de pacientes. O número de pessoas com diabetes no Brasil vai mais do que dobrar até 2030, chegando a 11,3 milhões (OMS, 2003).

A pesquisa do feijão no país tem sido orientada principalmente para a melhoria da qualidade fisiológica do grão. No entanto, as mudanças no estilo de vida têm demandado novas exigências do consumidor. Assim, torna-se importante avaliar o valor nutricional do feijão e contribuir com os programas de melhoramento genético na obtenção de linhagens com melhores características nutricionais e funcionais que levem a satisfazer aos requerimentos nutricionais de diferentes grupos da população. Aumentos do teor protéico e dos aminoácidos sulfurados influenciam na melhoria de seu valor nutritivo, especialmente por ser o feijão, em combinação com o arroz, a principal fonte protéica de origem vegetal da dieta do brasileiro. A redução no teor de taninos a níveis desejáveis justifica-se por aumentar a estabilidade fisiológica do grão durante o armazenamento, além de ser um dos fatores associados à baixa digestibilidade de proteínas do feijão e efeitos benéficos na glicemia. O aumento do teor de fibra solúvel visa intensificar o efeito hipocolesteremiante e hipoglicemiante do feijão (Giuntini et al, 2003). Foi objetivo deste estudo avaliar o efeito das diferentes variedades de feijão na qualidade protéica, na glicemia e no perfil lipídico em ratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J. W., SMITH, B. M., WASNOCK, C. S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, 70(suppl):464S-474S, 1999

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. **Diabetes Care**, 26(1):S51-S61, 2003

CONAB – Centro Nacional de Abastecimento, 2002. Disponível em www.conab.gov.br

GIUNTINI, E. B., LAJOLO, F. M., MENEZES, E. W. Potencial de fibra alimentar em países ibero-americanos: alimentos, produtos e resíduos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 53(1):14-20, 2003

KUTOS, T., GOLOB, T., KAC, M., PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**, 80:231-235, 2003

PEREIRA, C. A., COSTA, N. M. Proteínas do feijão preto sem casca: digestibilidade em animais convencionais e isentos de germes (germ-free). **Revista de Nutrição**, Campinas, 15(1):5-14, 2002

OMS. Organização Mundial da Saúde, 2003. Disponível em www.bbcbrasil.com 14/11/2003.

WELCH, R., HOUSE, W., BEEBE, S., CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(25):3576-3580, 2000

CAPÍTULO 1

SIGNIFICADO NUTRICIONAL DO FEIJÃO E SEUS EFEITOS NA SAÚDE

Índice	Páginas
1. Introdução.....	6
2. Valor nutricional do feijão	7
3. Fatores antinutricionais	10
3.1. Compostos fenólicos	10
3.1.1. Taninos.....	11
3.1.2. Flavonoides	11
3.2 Fitatos	12
3.3 Lectinas.....	13
3.4 Fibra alimentar.....	14
3.5 Saponinas.....	16
3.6 Inibidores de protease.....	17
3.7 Inibidores de α -amilase.....	19
4. Qualidade protéica do feijão.....	19

5. Benefícios potenciais à saúde.....	23
5.1 Efeito hipocolesterolemiantes e redução de lipídios no sangue.....	23
5.2 Efeito hipoglicemiante	26
5.3 Atividade antioxidante	27
5.4 Redução nos riscos de câncer.....	29
5.5 Outros benefícios.....	30
6. Conclusão.....	30
7. Referências Bibliográficas.....	31

Introdução

O termo “leguminosa” tipicamente inclui feijões secos como *navy*, *pinto*, *lima*, *kidney*, *pink*, *black eye*, *black gram*, *garden pea*, *chickpea*, *horsebean*, *french*, *pigeon*, *moth*, *jack* e *tepany*, preto, branco, vermelho, lentilha, fava, feijão, e outras sementes oleosas como soja, amendoim e lupino (Sathe, 2002).

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é o mais amplamente cultivado de todos os feijões secos e é conhecido por diferentes nomes. A forma, o tamanho e a cor da semente variam consideravelmente. Cerca de 14.000 cultivares de feijão são conhecidos (Deshpande et al, 1984a), sendo o Centro Internacional de Agricultura, na Colômbia, o principal fornecedor do germoplasma de feijão seco (Nwokolo, 1996a).

Nos últimos 40 anos a produção mundial de feijão aumentou consideravelmente em 68,5%, passando de 11.173,313 toneladas métricas em 1961 a 18.825,653 toneladas métricas no ano 2000. Ásia, América do Sul, América Central do Norte, África e Europa produziram 49,91, 19,98, 16,40, 10,18 e 3,33% do feijão mundial, respectivamente. A produção da Índia, Brasil, China, Myanmar, USA e México no ano 2000 foi de 23,05, 16,13, 7,33, 6,53, 6,37 e 6,15%, respectivamente (Sathe, 2002).

Essa leguminosa é fonte de vários nutrientes. Apesar disso, o baixo valor nutricional de suas proteínas, impossibilitam o aproveitamento de seu potencial nutritivo pelo organismo (Evans & Bauer, 1978; Antunes & Sgarbieri, 1980; Fukuda et al, 1982). Entre as múltiplas causas que reduzem a digestibilidade do feijão têm sido citados os fatores antinutricionais (Bressani, 1993).

Estes antinutrientes são responsáveis por efeitos nocivos relacionados à absorção de nutrientes e micronutrientes que poderiam interferir com a função de certos órgãos. Assim, glucosinolatos, glicosídeos cianogênicos, inibidores enzimáticos, lectinas, alcalóides e compostos fenólicos podem induzir efeitos indesejáveis se seu consumo excede o limite máximo recomendado, bem como produtos de hidrólise levarem a efeitos prejudiciais (Shahidi, 1997a).

Por outro lado, alguns antinutrientes e seus produtos de hidrólise, podem ter efeitos benéficos para a saúde se estão presentes em quantidades

pequenas. São exemplos o ácido fítico, lectinas, compostos fenólicos, inibidores enzimáticos e saponinas que reduzem glicose no sangue, colesterol e triacilgliceróis. Além disso, tais compostos têm demonstrado reduzir os riscos de câncer de cólon (Martinez et al, 2000; Shahidi, 1997b; Abdullaev e Mejía, 1997).

Para valorizar a importância nutricional desses compostos é necessário conhecer não só a concentração deles no feijão, mas também sua biodisponibilidade, mecanismo de ação e possível sinergismo ou antagonismo com outros componentes da dieta ou do organismo humano (Martinez et al, 2000). A manipulação das condições de processamento e a remoção de certos compostos não desejados podem eliminar os efeitos negativos dos antinutrientes e exacerbar seus benefícios na saúde (Shahidi, 1997a). Na presente revisão estão sendo abordados os aspectos nutricionais do feijão, bem como os possíveis benefícios e efeitos adversos dos fatores antinutricionais presentes no grão.

Valor Nutricional

O feijão comum é uma importante fonte de proteínas, vitaminas, fibra alimentar, minerais e ácidos graxos insaturados, além de apresentar baixo conteúdo de sódio e, por ser de origem vegetal, não contém colesterol (Kutos et al, 2003; Coelho, 1991; Carmona et al, 1996 e Welch et al, 2000). Feijões secos são considerados freqüentemente como “a carne do homem pobre” porque eles provêm uma alta quantidade de proteína a um custo mais baixo que a maioria das fontes de proteína de origem animal (Sathe, 2002). E suas proteínas são complementares aos de cereais (Herrera et al, 1998).

O conteúdo de proteína em feijões comuns varia de 17,5 a 28,7%. Esta variação é dependente não somente da expressão genética que controla a síntese e acúmulo de frações específicas de proteínas, mas também de outros fatores, tais como aquisição de nutrientes, vigor da planta, maturação e tamanho da semente (Osborn, 1988). Há evidências de que fatores ambientais, tais como localização geográfica e estação do ano, possam influenciar significativamente o conteúdo protéico de feijões (Sathe et al, 1984).

Segundo Hughes et al. (1996), a digestibilidade de proteínas do feijão varia de 50 a 80%, sendo tipicamente menor que a de cereais (70 a 90%) e de produtos de origem animal (80 a 95%). Bressani e Elias (1984) relataram ser melhor a digestibilidade dos feijões brancos quando comparados com os de cor escura.

Um dos maiores problemas do feijão é representado pelo baixo valor nutricional de suas proteínas decorrente, por um lado, da sua baixa digestibilidade e, de outro, do teor e biodisponibilidade reduzidos de aminoácidos sulfurados (Bodwell et al, 1980; Hughes, 1991, Bressani, 1993). No entanto, o feijão apresenta quantidades consideráveis de leucina e lisina, além de ácido glutâmico, glutamina, ácido aspártico e asparagina (Chang e Satterlee, 1981). A lisina das leguminosas é considerada de grande valor nutricional na complementação das proteínas dos cereais que, de modo geral, são pobres em lisina e com adequado teor de aminoácidos sulfurados (Sgarbieri e Whitaker, 1982; Cruz, 2000).

As proteínas de feijão apresentam, normalmente, digestibilidade reduzida quando no estado nativo e, em geral, maior após tratamento térmico (Wu et al, 1984). Isso decorre, provavelmente, da modificação de suas estruturas secundária e terciária e da desnaturação dos fatores antinutricionais de natureza protéica, levando a maior ação das enzimas digestivas (Sagum e Arcot, 2000). No entanto, pesquisas têm relatado que a digestibilidade da proteína do feijão é limitada, mesmo após tratamento térmico, possivelmente pela conformação e estrutura primária dessas proteínas, e pela presença de outros componentes da semente, tais como inibidores de proteases termoestáveis e polifenóis, que interagem com as enzimas digestivas formando complexos, diminuindo sua suscetibilidade à hidrólise e conseqüentemente a digestibilidade protéica (Nielsen, 1991).

Feijões comuns são relativamente boa fonte de vitaminas hidrossolúveis, especialmente tiamina (0,86 a 1,14 mg/100g), riboflavina (0,136 a 0,266 mg/100g), niacina (1,16 a 2,68 mg/100g), vitamina B₆ (0,336 a 0,636 mg/100g) e ácido fólico (0,171 a 0,579 mg/100g), mas são pobres fontes em vitaminas lipossolúveis e vitamina C (Geil e Anderson, 1994). A biodisponibilidade e interação das vitaminas com outros componentes do feijão são ainda incertas (Gel e Anderson, 1994).

O feijão comum apresenta um teor elevado de muitos minerais essenciais (Ca, Fe, Cu, Zn, P, K e Mg), e pouca quantidade de sódio (Kutos et al, 2003). A biodisponibilidade de minerais nos feijões é menor quando comparada com os produtos de origem animal em virtude da presença dos fatores antinutricionais (Sathe et al, 1984; Geil e Anderson, 1994). Os feijões também contêm altas concentrações de fitatos, taninos e fibras, que diminuem a biodisponibilidade de ferro e zinco (Chiaradia e Gomes, 1997; Sharon e Thompson, 1997).

O feijão comum apresenta um teor de fibra alimentar de 14 a 19% (Kutos et al, 2003) constituindo uma boa fonte de fibra alimentar solúvel e insolúvel (Hughes e Swanson, 1989; Hughes, 1991). Além disso, tem-se sugerido que o feijão apresenta uma determinada quantidade de amido resistente (AR) que não é digerível (Kutos, 2003). Foram verificados teores de 18% de AR no feijão (Lobo e Silva, 2003).

A fibra alimentar pode modificar a digestibilidade das proteínas por aumentar a excreção de nitrogênio (Kritchevsky, 1988). No intestino grosso favorece o crescimento de células bacterianas, tais como bifidobactérias causando mudança no metabolismo de nitrogênio (Mason, 1984).

Recentes pesquisas atribuem à fibra efeitos benéficos para a saúde como ação laxativa e efeito protetor contra doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, câncer no cólon e outras doenças diverticulares (Kutos, 2003).

Os feijões possuem quantidades apreciáveis de fibra solúvel (pectinas, gomas e galactanas) que apresentam efeito hipocolesterolemizante e hipoglicemizante em humanos (Geil e Anderson, 1994). Também contribuem para o funcionamento gastrintestinal normal, por suas propriedades de hidratação, troca catiônica e adsorção de moléculas orgânicas (López et al, 1997).

No feijão, o amido é o principal carboidrato do ponto de vista quantitativo, e os oligossacarídeos como a rafinose estão em pequenas, mas significativas quantidades. Algumas investigações evidenciam que os oligossacarídeos tipo rafinose causam flatulência e sensação de desconforto após ingestão de feijão (Oliveira et al, 2001). Os efeitos de flatulência são causados pela falta de atividade da enzima α -galactosidase no trato digestivo de humanos e de animais experimentais, pois os oligossacarídeos, ao

passarem pelo intestino grosso, são anaerobicamente fermentados, produzindo gases como H₂, CO₂, e CH₄, podendo causar flatulência, diarreia e dor abdominal (Naczki et al, 1997; Oliveira, 2001).

Além dos compostos mencionados o feijão possui alguns atributos indesejáveis, como fitatos, taninos, inibidores enzimáticos e lectinas que devem ser removidos para a efetiva utilização do feijão (Chiaradia et al, 1999).

Fatores Antinutricionais

Compostos fenólicos

Quimicamente, os compostos polifenólicos são substâncias que possuem um anel aromático, um anel benzeno, com um ou mais grupos hidroxilas incluindo derivados funcionais (ésteres, metil ésteres, glicosídeos, etc), sendo que sua natureza varia desde moléculas simples como os ácidos fenólicos até compostos altamente polimerizados como os taninos (Martinez et al, 2000).

Certos polifenóis têm sido considerados antinutrientes, já que podem formar complexos com proteínas, amido e enzimas digestivas, causando uma redução no valor nutritivo dos alimentos. No entanto, na atualidade, este grupo de compostos fitoquímicos é considerado de interesse nutricional pela sua contribuição na manutenção da saúde humana. Assim, sua atividade antioxidante e atividade antinutricional têm sido associadas ao seu papel protetor nas doenças cardiovasculares e câncer, bem como nos processos de envelhecimento (Martinez et al, 2000).

Segundo Harbone (1998), os compostos fenólicos podem-se agrupar em fenóis, ácidos fenólicos e derivados, flavonóides e taninos, sendo este último o grupo mais importante.

Taninos

Os taninos são compostos fenólicos hidrossolúveis com um peso molecular compreendido entre 500 e 3000D. Por possuírem maior número de grupos hidroxilas, entre outros grupos funcionais, são capazes de se ligarem a proteínas e a outras macromoléculas (Martinez et al, 2000).

Os taninos são classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos não hidrolisáveis, condensados ou proantocianidinas. Os taninos hidrolisáveis encontram-se em quantidades traços nos alimentos que se consomem habitualmente, e podem ser quebrados em açúcares, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos simples, enquanto que os taninos condensados ou proantocianidinas são os principais antinutrientes dentre todos os polifenóis (Chung et al, 1998). Este segundo grupo, abundante nos alimentos vegetais, é formado por polímeros flavan-3-ols (catequinas) ou flavan-3,4-diols (leucoantocianidinas) (Carmona, 1996).

Pesquisas realizadas com frangos, avaliando o efeito antinutritivo dos taninos, mostraram que esses compostos agem negativamente sobre a ingestão do alimento, taxa de crescimento, digestibilidade da proteína e disponibilidade dos aminoácidos. Este fato tem sido atribuído ao seu sabor adstringente e habilidade para complexar proteínas (Treviño et al, 1992). Acrescenta-se ainda que os taninos inibem a atividade de algumas enzimas digestivas, tais como a tripsina e α -amilase (Chung et al, 1998).

Flavonóides

Os flavonóides são responsáveis pela cor natural dos alimentos. Dentre eles as antocianinas são responsáveis pelas cores rosa, vermelho, azul e violeta dos vegetais, e estão presentes como glicosídeos antociânicos, compostos de duas ou três partes: a estrutura básica que é uma aglicona (antocianidina), o açúcar e, freqüentemente, um ácido (Francis, 1992). No entanto, são compostos muito instáveis, produzindo-se perda da cor durante o processamento, armazenamento e congelado (Martinez et al, 2000).

No *Phaseolus vulgaris* têm sido identificadas as antocianinas delfinidina 3-glicosídeo e 3,5-diglicosídeo (Perim, 1999) ou uma mistura de pelargonidina e cianidina 3-glicosídeo e 3,5 diglicosídeo (Markakis et al, 1982). Também foram identificadas nas cascas a petunidina, a malvidina 3-glicosídeo e a delfinidina 3,5-diglicosídeo (Markakis, 1982). Chiaradia (1997), através de reações químicas específicas e métodos espectrofotométricos e cromatográficos, identificou três frações purificadas de feijão preto: delfinidina 3-glicosídeo, cianidina 3-glicosídeo e malvidina 3-glicosídeo.

De maneira geral, os flavonóides podem quelar metais influenciando na cor natural dos alimentos. Desta forma, os quelatos de ferro são responsáveis das colorações azuis e pretas, enquanto os quelatos de alumínio proporcionam colorações amarelo brilhante ou marrons (Martinez et al, 2000).

Nas leguminosas, os principais compostos fenólicos são os flavonóides, ácidos fenólicos e taninos (Bravo, 1998; Knekt, 1997), localizados principalmente no tegumento do grão nas variedades vermelhas e pretas (Goycoolea et al, 1990; Bravo, 1998). Têm sido relatados teores de taninos em concentrações de 2% expressos como equivalentes de catequinas ou ácido tânico (Nelson & Cummings, 1975). Variando estes teores em função da espécie do feijão e da cor da casca (Ready et al, 1985). Deshpande et al. (1982) observaram que o conteúdo de taninos dos feijões pigmentados inteiros e descascados variou de 33,7 a 282,8 mg de equivalentes de catequina/100g de feijões inteiros e de 10,0 a 28,8 mg de equivalentes catequina/100g de feijões descascados. Também, taninos não foram detectados nos cultivares de semente branca (*Sanilac, Great Northern e Small White*). Cascas de feijão contêm aproximadamente de 5 a 7% de taninos, com base no seu peso. Quando expresso em termos de grão inteiro, esse valor é de cerca de 1,1 a 2,5 vezes maiores quando a extração é feita na farinha do feijão, em relação ao feijão inteiro (Deshphande e Cheryan, 1985).

Fitatos

O ácido fítico e seus sais constituem a principal forma de armazenamento de fósforo nas sementes de cereais e leguminosas (Martínez et al, 2002). No entanto, sob esta forma o fósforo permanece indisponível para

o homem e animais monogástricos (Petterson et al, 1999 e Segueilha et al, 1993). Isto ocorre porque eles não têm suficiente atividade de fosfatases endógenas (fitases) que sejam capazes de liberar o grupo fosfato da estrutura do fitato (Wals et al, 1994). O ácido fítico é uma molécula com seis grupos ortofosfatos (Ins P₆), de nome químico *myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexaquis* (dihidrogênio fosfato). Segundo esta estrutura, o ácido fítico em pH neutro e ou pH que normalmente apresentam os alimentos, é uma molécula carregada negativamente e, portanto, muito reativa (Martínez et al, 2002), sendo visto como componente de ação antinutricional capaz de quelar proteínas, minerais bivalentes e amido, podendo comprometer a biodisponibilidade destes nutrientes (Oliveira et al, 2003). Curiosamente, o ácido fítico, em baixas doses, pode atuar positivamente sobre a saúde, apresentando ação protetora contra o câncer, redução da formação de cálculos renais e prevenção de doenças cardiovasculares (Szkudelski, 1997).

Concentrações entre 0,4 e 6,4% de ácido fítico constituem a principal reserva de fosfato das sementes de cereais e leguminosas, e se localiza fundamentalmente no cotilédone e nexos embrionários. Cerca de 70% de fosfato está contido no ácido fítico integrado a proteínas e minerais na forma de complexos e 75% do ácido fítico está associado a componentes da fibra solúvel presentes na semente (Oliveira et al, 2003; Martínez et al, 2002).

É importante ressaltar que o conteúdo de ácido fítico pode ser significativamente reduzido nos processos que favorecem a ativação da fitase, como a fermentação e o cozimento. Os produtos da degradação do ácido fítico são inosítois com menor número de fosforilações penta, tetra, tri, di e monofosfatados, os quais, com exceção do pentafosfato, não atuam como quelantes de nutrientes (Oliveira et al, 2003).

Lectinas

As lectinas são proteínas não enzimáticas que se podem ligar a monossacarídeos e oligossacarídeos de forma reversível (Abdullaev e Mejía, 1997). Estão presentes em leguminosas comestíveis como feijões *kidney*, soja, lentilhas, ervilhas e muitas outras sementes de consumo humano (Liener, 1997). Além da sua habilidade para aglutinar células vermelhas sanguíneas

com especificidade para diferentes grupos sangüíneos, sua máxima habilidade é ligar açúcares específicos ou gliconjugados.

O conteúdo, a toxicidade e as propriedades biológicas de lectinas de feijão dependem da variedade. Embora alguns cultivares de feijão contenham pequenas concentrações de lectinas nas sementes, elas representam de 6 a 12% do conteúdo total de proteínas, desempenhando um papel importante na fisiologia da planta (Chiaradia e Gomes, 1997). Dois terços dessa porcentagem são lectinas tipo albuminas, que são proteínas de reserva sintetizadas no período final do processo de maturação de sementes (Azevedo, 2000). Tem sido observado que as lectinas tóxicas aparecem principalmente nas variedades pigmentadas, quando comparadas com as brancas ou não pigmentadas (Chiaradia e Gomes, 1997).

Várias pesquisas evidenciam que a função fisiológica das lectinas nos vegetais estaria associada a mecanismos de defesa das plantas contra insetos e microorganismos patogênicos (Liener, 1997).

Outros efeitos das lectinas estão relacionados a incremento no catabolismo de proteínas e lipídios, depleção de glicogênio nos tecidos musculares, e uma elevação nos níveis de insulina no sangue (Liener, 1997).

Além dos diferentes efeitos tóxicos, recentemente descobertos no campo da quimioterapia contra o câncer, as lectinas têm despertado interesse por sua atividade biológica sobre células transformadas, especialmente em relação ao efeito antitumoral. Bardocz et al. (1994) e Pusztai et al. (1993) demonstraram que a PHA-aglutinina de *Phaseolus vulgaris* tinha atividade antitumoral em linfomas acíticos de camundongo, sendo capaz de inibir o crescimento de tumores e aumentar a expectativa de vida do hospedeiro. Estudos *in vitro* têm avaliado os efeitos do extrato cru do feijão e da lectina purificada PHA sobre a formação de colônias de células Hela, encontrando-se que estes agentes inibem o desenvolvimento de células cancerígenas (Abdullaev e Gonzáles de Mejía, 1996).

Fibra alimentar

A fibra alimentar tem sido definida como material vegetal resistente à digestão pelas enzimas digestivas humanas e incluem todos os polissacarídeos

não amiláceos, amido resistente e lignina (Áreas e Reyes, 1996; Kutos et al, 2003).

Esse composto é constituído por uma fração insolúvel em água, formada por celulose, hemicelulose e pectinas insolúveis e lignina, e também por uma fração solúvel em água a qual compreende as substâncias pécnicas, algas, gomas, hemiceluloses solúveis e mucilagens (Áreas e Reyes, 1996). Além destes compostos, a ação biológica da fibra alimentar também é estendida a proteínas associadas à parede celular e alguns minerais (Lopez et al, 1997). Kutos (2003) acrescenta que a fibra alimentar insolúvel pode conter amido de natureza resistente ou residual, sendo que o amido residual pode ser usado pelo organismo humano como fonte de energia e o amido resistente não é digerível.

O feijão comum é uma importante fonte de fibra alimentar e possui cerca de 14 a 19% de fibra, principalmente fibra solúvel (Hughes, 1991; Kutos, 2003). Diversos autores têm estudado a relação que existe entre o baixo consumo de fibras e o desenvolvimento de certas doenças como diabetes, obesidade, câncer de cólon, doenças cardiovasculares e outras doenças diverticulares (Herrera et al, 1998; Giuntini et al, 2003; Kuttos et al, 2003). Além disso, o efeito hipocolesterolemizante do feijão tem sido atribuído comumente ao seu conteúdo de fibra (Anderson et al, 1999).

Lobo e Silva (2003) relataram que efeitos fisiológicos, inicialmente atribuídos às fibras alimentares, poderiam também ser atribuídos ao amido resistente. As propriedades mais importantes com influência no seu valor nutricional incluem a taxa e a extensão da digestão do amido ao longo do trato gastrointestinal e o metabolismo dos monômeros absorvidos. Dentre os fatores que afetam estas propriedades tem sido citado o processamento, o tempo de estocagem e a origem botânica dos alimentos (Diaz et al, 2002).

O processamento pode modificar o conteúdo de fibra alimentar, principalmente sua composição e propriedades físico-químicas, tendo diferentes influências fisiológicas sobre o organismo. Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas sobre feijões crus e poucas sobre feijões processados (Kuttos et al, 2003). Foi observado que o processamento, cocção e pré-tratamento do feijão *pinto* resultou em significativas diferenças nos teores de amido resistente, fibra alimentar insolúvel, fibra alimentar solúvel e fibra

alimentar total. Uma diminuição considerável de fibra alimentar insolúvel e conseqüentemente fibra alimentar total foi observada em amostras tratadas termicamente. O remolho e a cocção aumentaram significativamente o conteúdo de amido resistente (Kutos et al, 2003), sugerindo que este aumento é conseqüência da retrogradação do amido após gelatinização.

Leguminosas processadas têm mostrado conter significativas quantidades de amido resistente quando comparadas com cereais, tubérculos e frutas verdes. Por esse motivo, a taxa de digestão do amido e a liberação de glicose dentro da corrente sanguínea é menor após ingestão de leguminosas, resultando em resposta pós-prandial insulinêmica e glicêmica reduzidas em relação a grãos de cereais e batatas (Díaz et al, 2002).

Com relação ao feijão, foram verificados 8% de amido rapidamente digerível, 19% de amido lentamente digerível e 18% de amido resistente (Lobo e Silva, 2003).

Apesar dos efeitos benéficos da fibra, este composto também limita a utilização de outros nutrientes do feijão, como proteínas e minerais. A fibra alimentar pode modificar ou diminuir a digestibilidade das proteínas, por aumentar a excreção de nitrogênio (Pereira, 1998). A redução na absorção de minerais pode ser devido ao conteúdo de ácido fítico e a sua capacidade de se ligar a íons minerais polivalentes (Torre et al, 1991).

Saponinas

As saponinas fazem parte de um diversificado grupo de compostos comumente encontrados no feijão *Phaseolus* e em outras leguminosas. Sua estrutura está caracterizada pela presença de um grupo triterpeno ou esteróide, conhecida como aglicona ligado a uma ou mais moléculas de açúcares (Thompson, 1993; Linder, 1995). As saponinas têm propriedades espumantes e hemolíticas, além de um gosto amargo característico. Elas diminuem a tensão superficial e formam complexos com as proteínas e lipídios. A este composto têm sido atribuído um efeito hipocolesterolemiantes e anticancerígeno (Thompson, 1993; Chiaradia e Gomes, 1997). Acrescentam que as saponinas são tóxicas em altas concentrações e podem também afetar a absorção de

nutrientes por inibição de enzimas metabólicas e digestivas e pela ligação com nutrientes como o zinco (Shahidi, 1997b).

Inibidores de proteases

São substâncias de natureza protéica que interferem na atividade de sistemas enzimáticos do trato digestivo, inibindo proteases, que são enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas como primeiro passo para assimilação das proteínas, levando a uma redução da digestão protéica e, conseqüentemente, da assimilação de proteínas (Cruz, 2000).

Sementes de leguminosas são particularmente fontes ricas de inibidores de proteases (Osman et al, 2002). A maioria de inibidores de proteases inibe a tripsina, podendo inibir simultaneamente outras serina proteases, como a quimiotripsina (Robinson, 1990). De maneira geral, nas leguminosas, os inibidores de proteases são classificados como inibidores Kunits e Bowman-Birk (Osman et al, 2002). O inibidor Kunitz, apresenta peso molecular relativamente alto (ao redor de 20,000 D), com duas pontes de enxofre e com um só local de reatividade específica para tripsina. O inibidor Bowman-Birk, com peso molecular mais baixo (ao redor de 9000 D), apresenta sete pontes de enxofre e tem capacidade para reagir sobre tripsina e quimiotripsina simultaneamente. O inibidor Kunitz é termolábil enquanto o inibidor Bowman-Birk é termoestável (Robinson, 1990; Osman et al, 2002).

Whitaker (1996) menciona que a maioria das leguminosas contém o inibidor Bowman-Birk com considerável homologia, não produz o inibidor tipo Kunitz. Este último só está presente em duas espécies da família das leguminosas usadas na alimentação: a soja e os feijões *winged* (Froklér et al, 1997). Os inibidores de proteases do feijão são do tipo Bowman-Birk e se caracterizam por sua estrutura compacta e elevada resistência à inativação térmica, maior na forma purificada do que na matriz da semente, e são responsáveis pela reduzida digestibilidade *in vitro* da fração albumínica e de misturas contendo albuminas e faseolina (Genovese e Lajolo 2001).

A tripsina humana existe em duas formas: uma forma catiônica que constitui o principal componente, e uma espécie aniônica que compreende cerca de 10-20% da atividade total de tripsina. Enquanto a última é fortemente

inativada pelo inibidor Kunitz, a forma catiônica é só fracamente inibida (Liener e Kakade, 1980).

A ingestão do feijão cru causa alteração na digestão e absorção de proteínas ocasionando hipertrofia, seguida de hiperplasia das células exócrinas do pâncreas de animais em experimentos, tendo em consideração que os níveis de secreções pancreáticas e o tamanho do pâncreas são normalmente regulados pelos os níveis de tripsina livre no intestino (Roebuck, 1987 e Liener, 1991). Os inibidores de proteases induzem mudanças histológicas e funcionais no pâncreas, acelerando a secreção de enzimas por um mecanismo de retrocontrole por meio de colecistoquinona (CCK) e, em consequência, o pâncreas é estimulado a secretar mais enzimas, incluindo a tripsina, que aparentemente está em baixas concentrações por estar ligada aos inibidores de proteases (Holm et al, 1992).

É necessário ressaltar a relação entre atividade dos inibidores de tripsina e o conteúdo de polifenóis das sementes de feijões. Pesquisando feijões de várias cores foi encontrado que a atividade dos inibidores de tripsina era afetada por um fator termolábil (verdadeiro inibidor de tripsina) e por um fator termoestável (polifenóis) (Chiaradia e Gomes, 1997). No caso de feijões crus, a atividade dos inibidores de tripsina não diferiu significativamente entre os cotilédones dos feijões preto e vermelho, mas os cotilédones de feijões brancos mostraram atividade significativamente menor quando comparados com esses outros dois tipos feijões (Chiaradia e Gomes, 1997).

Contrariamente a estes resultados, Genovese e Lajolo (2001) demonstraram que, pelo menos no caso do feijão *Carioca*, os compostos polifenólicos da casca não estão envolvidos no efeito inibitório de proteases. Os valores mais elevados de atividade resultariam da concentração dos inibidores no cotilédone, com a retirada da casca (Genovese e Lajolo, 2001).

O grau de destruição dos inibidores pelo tratamento térmico depende da temperatura, da duração do tratamento térmico, do tamanho da partícula, e do conteúdo de umidade do alimento. O inibidor de tripsina é destruído por ação de vapor durante 15 minutos quando o conteúdo de umidade é de 20%, mas quando o conteúdo de umidade é de 60% são suficientes 5 minutos ao vapor. Também a embebição em água durante a noite anterior e a fervura por 5

minutos destrói os inibidores. Uma variedade de *P. vulgaris* aquecida a vapor a 121 °C perde em 5 minutos 80% dos inibidores de tripsina (Lindner, 1995).

Segundo Coelho (1991), os inibidores de tripsina estariam localizados na porção mais externa da planta (tegumento ou próximo a ele), e a retirada do tegumento do feijão levasse a perda de inibidores de tripsina, tornando o feijão mais deficiente em aminoácidos sulfurados. Além desta perda, o teor de lisina também seria destruído durante a cocção devido a reações com açúcares redutores (reação de Maillard), não sendo, portanto, aconselhável esta prática (Chiaradia, 1997).

Inibidores de α -amilase

Estas proteínas são principalmente derivadas de cereais e leguminosas, incluindo trigo, milho, cevada, sorgo, amendoim e feijões (Whitaker, 1996). A maioria delas forma lentamente complexos com α -amilase na proporção estequiométrica de 1:1. Estes inibidores no feijão são lentos e de ligação forte, sendo completamente termoestáveis, resistindo à temperatura de cocção por 1 hora (Whitaker, 1996).

O inibidor purificado de feijões *kidney* tem sido citado como uma glicoproteína com um peso molecular de 45.000 – 50.000, contendo cerca de 10% de carboidratos, cuja oxidação conduz à perda completa da atividade inibitória (Liener, 1980).

Qualidade protéica do feijão

Apesar do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) ser uma das principais fontes protéicas da população brasileira, apresenta limitações que impossibilitam a utilização de todo seu potencial nutritivo pelo organismo (Cruz, 2000).

Um dos maiores problemas do feijão é representado pelo baixo valor nutricional de suas proteínas, decorrente por um lado, da sua baixa digestibilidade e, de outro, do teor e biodisponibilidade reduzidos de aminoácidos sulfurados (Pereira e Costa, 2002). Até agora não se conhece com certeza se a baixa digestibilidade é causada por uma descarga muito

rápida do intestino ou por resistência destas proteínas à hidrólise das enzimas gastrintestinais (Chiaradia, 1997). A digestibilidade das proteínas do feijão varia de 50 a 80%, sendo tipicamente menor quando comparada com cereais e produtos de origem animal (Hughes et al, 1996).

Bressani (1993) relatou ser multicausal a reduzida digestibilidade das proteínas do feijão, atribuindo esse fato aos fatores antinutricionais, ao processamento e ao armazenamento. A presença de fatores antinutricionais, tais como os taninos condensados, causam diminuição na digestibilidade das proteínas como resultado de formação de complexos insolúveis resistentes às enzimas (Savelkoul et al, 1992).

Os taninos se unem às proteínas através de ligações do tipo pontes de hidrogênio, entre os grupos hidroxilas dos taninos e os grupos carboxilas das ligações peptídicas das proteínas, apresentando os taninos uma alta afinidade pelas proteínas ricas em prolina (Hagerman e Butler, 1980). Tem sido proposto que essa afinidade protege algumas espécies animais contra a toxidez dos taninos (Perez-Maldonado et al, 1995), reagindo o complexo proteína-tanino mais eficientemente em valores de pH próximos do ponto isoelétrico da proteína (Mangan, 1988).

Nos feijões, a digestibilidade varia conforme o cultivar; sementes brancas apresentaram uma digestibilidade maior em comparação às vermelhas associando-se ao teor e à natureza dos taninos da casca das variedades coloridas (Readdy et al, 1985; Aw e Swanson, 1985). Jaffe (1950), citado por Sgarbieri e Whitaker (1982), encontrou valores de 76,8, 79,5 e 84,1 % para digestibilidade *in vivo* de proteínas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) preto, rosa e branco, respectivamente.

A remoção física dos taninos por descascamento ou moagem pode diminuir o conteúdo de taninos nos grãos e aumentar a digestibilidade (Bressani e Elias, 1980; Bressani et al, 1983; Deshpande et al, 1982; Elias et al, 1979; Salunkhe et al, 1982). Têm sido relatadas perdas de taninos por descascamento em feijão comuns ao redor de 68 a 95% (Deshpande et al, 1982). No entanto, existe a possibilidade de que alguns taninos se difundam para o endosperma do cotilédone e se liguem às proteínas durante o remolho (Reyes-Moreno e Paredes-López, 1993). A remoção dos taninos também pode ser feita por cozimento. Para Ziena et al. (1991), menos de 10% dos taninos

totais são decompostos durante o cozimento, enquanto cerca de 50% são carregados para o líquido de cocção.

Apesar de quantidades significativas de polifenóis serem eliminadas na água de lavagem e na água de cozimento, o resíduo é retido principalmente pelos cotilédones, desta forma a quantidade de taninos ingerido dependerá de como os feijões são processados e consumidos (Bressani e Elias, 1980; Sgarbieri, 1987).

Um aquecimento excessivo tem um efeito negativo sobre o valor protéico do feijão porque leva a um aumento na retenção de polifenóis no cotilédone (Aw e Swanson, 1985) e diminui a disponibilidade de alguns aminoácidos, em particular a lisina (Molina et al, 1975).

Chiaradia (1997) estudou o efeito da retirada do tegumento, das antocianinas e de outros polifenóis na qualidade das proteínas do feijão, mostrando que a retirada do tegumento do feijão cozido reduz seu valor protéico provavelmente pela eliminação simultânea de aminoácidos sulfurados e lisina provenientes de proteínas contidas nessa parte dos grãos. Neste mesmo trabalho, observou-se que a extração das antocianinas do feijão não provocou aumento da qualidade protéica. Sugerindo com este fato, que ocorre migração de polifenóis dos tegumentos para os cotilédones durante o processo de extração desses compostos.

Além disso, os taninos no intestino, podem se ligar a proteínas endógenas principalmente enzimas digestivas, afetando a absorção de outros micronutrientes, inibindo enzimas envolvidas no processo digestivo e enzimas microbianas que participam na fermentação (Yaper e Clandinin, 1972; Watson, 1975; Davis e Honseney, 1979). Essa interação ocorre, através de ligações de hidrogênio, ligações hidrofóbicas, ligações iônicas e ligações covalentes e a intensidade dessas ligações depende de vários fatores como o tamanho, a conformação e carga da proteína, o pH do meio e o grau de polimerização dos taninos (Coelho e Lajolo, 1993).

Existe também a possibilidade de que as lectinas possam inibir a atividade de certas enzimas intestinais que participam da digestão de proteínas. A respeito, tem sido relatado que as lectinas podem inibir enteroquinase (enzima que ativa tripsinogênios) e peptidases derivadas da membrana da borda em escova do epitélio intestinal. A perda endógena de

nitrogênio pode intensificar os efeitos tóxicos de lectina com respeito à utilização de proteínas (Liener, 1997).

Em geral, a maior parte das lectinas são inativadas com o tratamento térmico (Jaffé, 1980; Liener, 1997). Apesar disso, seus efeitos tóxicos no consumo estariam associados a um cozimento inapropriado. Jaffé (1980) menciona que a resistência de lectinas à inativação pelo calor seco merece muita atenção, sendo requerida uma embebição prévia antes do cozimento para completa eliminação de toxicidade de feijões *kidney*. Têm sido observado que as mais tóxicas lectinas de feijões foram resistentes ao tratamento térmico, depois de 30 minutos de cozimento, não sendo completamente destruídas (Jaffé, 1980).

Experimentos com animais têm demonstrado que algumas variedades de *Phaseolus vulgaris*, incluindo o feijão *kidney*, são muito pouco toleradas a menos que tenham recebido tratamento térmico. A lectina de feijões *kidney* mostrou-se ser muito mais tóxica que a lectina de soja, ao contrário do efeito da lectina de soja em simplesmente retardar o crescimento, elas provocaram a redução no peso levando a morte do animal (Liener, 1997). Além disso, a toxicidade das lectinas poderia ser atribuída a sua capacidade para ligar-se à mucosa intestinal provocando severos rompimentos e desenvolvimento anormal das microvilosidades intestinais, estimulando não somente aumento na espessura e área do intestino grosso como consequência da proliferação celular como também acumulação de poliaminas (Frokiaer et al, 1997). Foi observado que os danos ocasionados por lectinas na mucosa intestinal de ratos causou má absorção de aminoácidos, lipídios, vitamina B12 e interferiu no transporte de íons (Liener, 1997).

A capacidade do ácido fítico, encontrado em condições naturais no feijão, de associar-se à proteína deve-se à carga negativa da sua molécula. Em pH levemente ácido ou neutro, os seis grupamentos fosfato da molécula de ácido fítico expõem suas 12 cargas negativas, favorecendo a complexação direta ou indireta desta molécula com proteínas e enzimas, alterando a digestibilidade e absorção desses nutrientes (Oliveira et al., 2003).

As proteínas, por sua vez, em pH abaixo do ponto isoelétrico, apresentam carga positiva, podendo associar-se diretamente ao ácido fítico através de ligações eletrostáticas, ou, quando carregadas negativamente,

podem ligar-se indiretamente, mediadas por cátions multivalentes (Richard, 1997). Isto reduz a digestibilidade da proteína por tornar o complexo resistente à digestão proteolítica (Éstevez et al., 1991). No entanto vale ressaltar que durante o processamento dos alimentos, a quantidade de ácido fítico diminui significativamente como consequência de sua hidrólise, enzimática ou química, em inositol fosfatos com um menor grau de fosforilação (Domínguez et al, 2002).

Outros estudos mencionam que os fitatos poderiam não ter efeitos adversos na digestibilidade de proteínas, sendo necessária maior investigação nesta área (Sathe, 2002).

As proteínas do feijão apresentam, normalmente, digestibilidade reduzida quando no estado nativo e, em geral, maior após tratamento térmico (Wu et al, 1984). O valor nutritivo da proteína do feijão é aumentado pelo processamento térmico, especialmente pelo calor úmido, levando a desnaturação das proteínas e dos fatores antinutricionais de natureza protéica (Poel et al, 1990).

Contudo, pesquisas têm relatado que a digestibilidade é limitada mesmo após tratamento térmico, talvez pela conformação e estrutura primária das proteínas ou pela presença de outros componentes da semente que interagiriam com as enzimas digestivas e com as proteínas do feijão (Nielsen, 1991). Além disso, a melhoria da capacidade de digestão não implica necessariamente no aumento da qualidade protéica, pois os aminoácidos podem estar sendo bem absorvidos, mas podem não estar participando da síntese protéica em virtude da deficiência de alguns aminoácidos essenciais (Pereira e Costa, 2002).

Benefícios potenciais à saúde

Efeito hipocolesterolemizante e redução de lipídios no sangue

A proteína alimentar é conhecida por afetar o metabolismo do colesterol. As proteínas de origem vegetal têm sido associadas à diminuição dos níveis de colesterol do plasma (Gilani et al, 2002). Contudo, em experimentos com humanos e modelos animais a caseína apresentou maior poder

hipercolesterolemiantes do que isolado protéico de soja (Gilani et al, 2002; Belleville, 2002).

Apesar de não haver consenso entre os pesquisadores, sugere-se que o efeito hipocolesterolemiantes das leguminosas pode ser atribuído ao seu perfil aminoacídico e a outros componentes não protéicos (Kern et al, 2002).

Alguns destes estudos apontam a metionina como responsável pelas alterações nos níveis de colesterol. Considerando que a proteína da soja apresenta apenas a metade do teor contido na caseína (Kern et al, 2002; Belleville, 2002). Outros autores têm atribuído o efeito hipocolesterolemiantes da proteína de soja à menor expressão do mRNA da lipoproteína hepática A-I, porém não explicam o mecanismo responsável por esse efeito (Sathe, 2002).

Além da metionina, outros aminoácidos são relatados por influenciarem no efeito hipocolesterolemiantes. A relação glicina:metionina na proteína de soja é equivalente à metade do teor presente na caseína. Outras pesquisas têm atribuído a relação lisina:arginina ser responsável pelo aumento de colesterol na caseína (Morita, 1997; Kritchevsky, 1982).

Vários estudos têm relacionado o efeito hipocolesterolemiantes das proteínas vegetais à maior excreção fecal de esteróides como consequência da redução na absorção intestinal (Nagata et al, 1982; Huff et al, 1980).

Outra evidência do maior efeito hipocolesterolemiantes da soja é devido à presença ou ausência de componentes não protéicos (Belleville, 2002), sendo que este efeito pode não ser exclusivo para a soja, ocorrendo também para as proteínas das plantas em geral (Baba et al, 1992). Assim as saponinas, fibra, ácido fítico, minerais e isoflavonas têm sido pesquisados (Potter, 1995; Balmir et al, 1996; Thompson, 1993).

Dos antinutrientes, as saponinas têm sido amplamente estudadas por seu efeito hipocolesterolemiantes. Redução nos níveis de colesterol foi observada quando frangos, ratos, camundongos e macacos foram alimentados com dietas contendo saponinas purificadas de *quillaja*, *fenugreek*, *tomatine*, *gypsophilla*, *digitonin*, *saikosaponin*, *saponaria*, soja, ervilha e alfafa, com ou sem adição de colesterol (Rao e Kendall, 1986; Sharma, 1986; Cayen, 1971; Morgan, 1972; Yamamoto et al, 1975; Oakenful et al, 1979; Malinow et al, 1977; Thompson, 1993).

Entretanto, em estudos animais, o efeito hipocolesterolemiantes das saponinas está principalmente ligado à adição de colesterol. Já em humanos os estudos são menos conclusivos. Dietas contendo alimentos ricos em saponinas (300 a 500 mg/dia) tais como soja, alfalfa, ervilha, feijão e mandioca reduziram o colesterol do plasma de 16 a 24 % (Thompson, 1993). Contudo, tais alimentos também contêm outras substâncias que podem contribuir na redução do colesterol. As saponinas podem reduzir o colesterol sanguíneo ao ligar-se ao colesterol alimentar, impedindo a sua ligação com ácidos biliares, e aumentando a excreção fecal de colesterol, interferindo na circulação enterohepática (Sidhu e Oakenful, 1986). O aumento na excreção de ácidos biliares pode ser compensado pelo aumento na síntese de ácidos biliares a partir do colesterol no fígado e conseqüentemente redução do colesterol do plasma, sendo estes mecanismos possíveis pela estrutura anfifílica da saponina (Thompson, 1993).

A adição de ácido fítico à dieta, em níveis de 0,2 a 9%, reduziu significativamente os níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos. Isto estaria relacionado com a capacidade do ácido fítico ou do complexo fitato-cálcio de ligar-se ao zinco, diminuindo os níveis séricos de zinco e a relação Zn/Cu, já que elevados valores desta relação em humanos estariam associados com doenças cardiovasculares pelo efeito hipercolesterolemiantes (Martínez, 2002). Acrescente-se que o efeito hipercolesterolemiantes pode estar relacionado também à habilidade do ácido fítico em reduzir as concentrações de insulina e glicose plasmáticas, levando a redução de estímulos para síntese de lipídios hepáticos (Thompson, 1988; Wolever, 1990).

O inibidor de amilase pode reduzir o colesterol e triglicerídeos do plasma pelo mesmo mecanismo pelo qual reduz a insulina e glicose plasmática (Thompson, 1993).

Compostos fenólicos encontrados no grão de bico reduziram os níveis de lipídios do sangue em ratos acreditando-se serem responsáveis pelo efeito hipocolesterolemiantes do grão de bico (Sharma, 1980)

Efeito Hipoglicemiante

Os alimentos amiláceos lentamente digerível e com baixa resposta à glicose têm sido sugeridos por apresentar maiores benefícios para a saúde e no controle de diabetes e hiperlipidemia, apontando aos antinutrientes encontrados nestes alimentos como responsáveis de tais efeitos (Thompson, 1988). Dentre este grupo de alimentos as leguminosas têm mostrado baixos valores para digestibilidade do amido e resposta de glicose (Jenkins et al, 1986; Thompson, 1988). Uma significativa relação negativa foi observada entre a resposta de glicose para leguminosas, expressado como índice glicêmico e ingestões de ácido fítico, lectinas ou hemaglutininas e compostos fenólicos e taninos presentes nestes alimentos (Yoon et al, 1993; Rea et al, 1985, Thompson et al, 1984).

Pesquisas relatam que o ácido fítico em baixas concentrações tem sido eficaz no retardo da digestibilidade do amido e diminuição da resposta glicêmica (Martinez et al, 2002).

O ácido fítico diminui a velocidade de digestão do amido pelos mesmos mecanismos pelos quais exerce sua ação antinutriente, ligando-se diretamente à α -amilase e inativando-a, ou complexando-se com o cálcio, modificando, assim, seu grau de gelatinização e acessibilidade às enzimas digestivas. O ácido fítico influencia também na resposta sangüínea da glicose produzindo retardo no esvaziado gástrico (Thompson, 1993).

O ácido fítico presente nas leguminosas é capaz de se ligar, no intestino, a metais bivalentes e trivalentes (Fe, Ca, Zn e Mg), diminuindo sua absorção. A capacidade do ácido fítico de reduzir a relação Zn:Cu, também estaria relacionada com a redução dos níveis plasmáticos de glicose e a concentração de insulina (Slavin, 1997), levando a uma diminuição da síntese hepática de lipídeos (Wolever, 1990).

Se os inibidores de α -amilase são nutricionalmente importantes, é uma controvérsia. Estes certamente diminuem a taxa de digestão do amido na saliva e intestino delgado de humanos e ratos, podendo-se observar algum amido não digerido nas fezes de ratos experimentalmente alimentados com estes inibidores (Whitaker, 1996). A detecção de amido não digerido em ratos alimentados com feijões crus com alta atividade de inibidores de amilase

motivou os pesquisadores a sugerirem que estes inibidores poderiam ser ativos *in vivo*, mas este efeito aparentemente não afeta o crescimento, dado que Savaiano et al (1977) não observaram nenhuma inibição do crescimento de ratos alimentados com uma preparação contendo inibidor de α -amilase purificado de feijões *kidney* vermelhos (Liener, 1980). No entanto, Whitaker (1996) afirmou que existe um pequeno efeito destes inibidores no crescimento de ratos e frangos. A glicose não é liberada tão rapidamente a partir da digestão do amido para o sangue de humanos e ratos na presença de inibidores de α -amilase.

Apesar das lectinas serem similares aos anticorpos na sua habilidade para se ligar a antígenos específicos, a diferença está em que as lectinas não são produtos do sistema imune, suas estruturas são diversas e sua especificidade é limitada a carboidratos (Liener, 1997). Uma das principais conseqüências do dano provocado na mucosa intestinal por lectinas é o prejuízo na absorção de glicose através da parede intestinal (Liener, 1997).

Atividade Antioxidante

Apesar dos compostos fenólicos tradicionalmente terem sido considerados como antinutritivos devido ao seu efeito adverso sobre a digestibilidade protéica, atualmente têm despertado interesse por suas propriedades antioxidantes, responsáveis pelo efeito preventivo sobre determinadas doenças, freqüentes nos países desenvolvidos, como doença cardiovascular e câncer epitelial (Martínez et al, 2000; Wang et al, 1996; Hertog et al, 1995), além dos processos de envelhecimento (Martinez et al, 2000).

O comportamento antioxidante dos compostos fenólicos estaria relacionado com sua capacidade de quelar metais, inibir a lipoxigenase e captar radicais livres, podendo também promover reações de oxidação "*in vitro*" (Decker, 1997; Martinez et al, 2000).

Martínez et al. (2000) e Pratt e Hudson (1990) fazem menção aos flavonóides, ácidos fenólicos e taninos como compostos fenólicos com reconhecida atividade antioxidante. A capacidade antioxidante das proantocianidinas ou taninos condensados e taninos hidrolisáveis de alto peso

molecular, sustentam a hipótese de que os polifenóis, por não serem absorvidos, podem agir como antioxidantes no trato gastrointestinal e protegendo proteínas, lipídios e carboidratos do dano oxidativo durante a digestão (Satué et al, 1997).

Tsuda et al. (1994 a, b) avaliaram a atividade antioxidante das antocianinas extraídas da casca de feijões vermelho e preto em diferentes sistemas, mostrando que as antocianinas exibiram seu efeito sobre sistemas microssomais do fígado de ratos muito mais forte do que α -tocoferol. Além disso, mostraram que as antocianinas do feijão vermelho (cianidina e pelargonidina) e preto (delfinidina) têm um mecanismo antioxidante diferente em condições de pH 3, 5 e 7; estes achados confirmam a teoria que o complexo de taninos e proteínas é influenciado por álcool, sais, pH e tipo de taninos envolvidos (Van Buren e Robinson, 1969). Existem evidências indicando que as antocianinas, além de não serem tóxicas ou mutagênicas, apresentam propriedades terapêuticas benéficas, principalmente em oftamologia e no tratamento de alterações na circulação sanguínea (Timberlake, 1988). Azevedo (2000) avaliando em camundongos o potencial de mutagenicidade e antimutagenicidade de dietas contendo 1% , 10%, e 20% do corante antocianina de feijão preto cozido e dos extratos brutos e purificados da casca de berinjela por meio do teste de micronúcleo em medula óssea e o teste do cometa, verificou que, o feijão apresentou efeitos protetores, minimizando a atividade mutagênica da ciclofosfamida, pelo teste do micronúcleo, porém, esse efeito não foi observado no teste do cometa. As antocianinas avaliadas não apresentaram efeito antimutagênico, nos dois testes.

São poucas as pesquisas sobre a biodisponibilidade, absorção e metabolismo dos compostos fenólicos em humanos. É evidente que alguns compostos fenólicos, como polifenóis extraíveis ou polifenóis solúveis são metabolizados no trato gastrointestinal, entretanto as agliconas, flavonoides e ácidos fenólicos podem ser diretamente absorvidos através da mucosa do intestino delgado (Hertog et al, 1996; Jiménez et al, 1994).

Redução no risco de câncer

O Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos tem identificado inúmeros alimentos que podem ter efeitos protetores contra o câncer atribuindo aos antinutrientes tais efeitos, incluindo inibidores de protease, ácido fítico, saponinas e compostos fenólicos (Messina e Barnes, 1991; Messina e Messina, 1991; Caragay, 1992).

O efeito protetor do ácido fítico em relação ao câncer de mama e cólon têm sido avaliado em estudos com animais. Observaram uma relação negativa significativa entre os níveis de ácido fítico e a proliferação de células epiteliais no colón ascendente e descendente (Martínez et al, 2002). Os mecanismos têm sido associados a ligações com o ferro, zinco e retardo da digestão do amido. Ao se ligar ao ferro, há uma redução na formação de radicais livres durante a oxidação dos lipídios; sua ligação com o zinco reduz a proliferação celular, e o retardo da digestão do amido permite que este composto seja fermentado pelas bactérias, produzindo ácidos graxos de cadeia curta cuja atividade protetora contra o câncer é conhecida (Martinez et al, 2002).

Os polifenóis podem interferir nas distintas etapas que conduzem ao desenvolvimento de tumores malignos através da proteção do DNA contra dano oxidativo, inativando, deste modo, os carcinógenos, inibindo a expressão dos genes mutagênicos, e atividade das enzimas responsáveis pela ativação de procarcinógenos, ativando, desta forma, os sistemas enzimáticos responsáveis pela desintoxicação de xenobióticos (Martinez et al, 2000). Estudos *in vivo* com animais têm relatado efeitos anticarcinogênicos dos polifenóis, porém usando altas concentrações. Foram observados efeitos preventivos em relação ao câncer de bexiga, e de pulmão (Martinez et al, 2000).

Entretanto, os inibidores de proteases têm sido relacionados tanto ao desenvolvimento do câncer pancreático como também na ação anticarcinogênica em estudos animais (Thompson, 1993). Trabalhos com culturas de células *in vitro* e dados epidemiológicos mostraram redução da taxa de mortalidade por câncer na população humana associada a uma elevada ingestão de inibidores de proteases. Os inibidores de protease, os mais efetivos são os que apresentam atividade inibitória de quimiotripsina, tais como

os encontrados na soja, ervilha e batata. O inibidor Bowman Birk da soja tem mostrado inibir ou prevenir o desenvolvimento de câncer do fígado, pulmão, cólon e esôfago (St. Clair et al, 1990; Witschi & Kennedy, 1989; Messadi et al, 1986; Messina & Barnes, 1991). Troll et al. (1987) relatam que um dos mecanismos pelos quais os inibidores de protease podem inibir a carcinogênese é a redução da digestibilidade de proteínas e assim a disponibilidade de aminoácidos para o crescimento de células carcinogênicas. A falta de aminoácidos principalmente leucina, fenilalanina e tirosina mostraram prevenir o crescimento de adenomas mamais e hepatomas em camundongos.

Com respeito às saponinas, tem sido relatado que sua ligação com os ácidos biliares primários poderiam reduzir a conversão bacteriana para ácidos biliares secundários e conseqüentemente reduzir sua habilidade para promover tumorigênese (Thompson, 1993).

Outros efeitos

Os polifenóis também têm sido associados com efeitos vasodilatadores, bactericidas, antialergênicos e antivirais (Martinez et al, 2000).

O ácido fítico tem influenciado na prevenção de cálculos renais, tratamento de hipercalcúria, controle de cárie dental e melhoria da capacidade de captação de oxigênio dos glóbulos vermelhos (Martinez et al, 2002; Thompson, 1993).

As saponinas estão presentes em várias plantas nativas, dentre elas o feijão, e exercem efeitos antiinflamatórios e expectorantes (Thompson, 1993).

Conclusão

O feijão comum apresenta componentes e características que tornam seu consumo proveitoso do ponto de vista nutricional, sendo uma importante fonte de proteínas, amido, vitaminas, minerais e fibras. No entanto, apresenta também limitações que impossibilitam a utilização de todo seu potencial nutritivo pelo organismo. Dentre as quais, podem ser citadas os efeitos do ácido fítico, lectinas, taninos, saponinas e inibidores de amilase e protease na redução da disponibilidade de nutrientes e levando a alterações no crescimento

de animais. Além disso o ácido fítico, lectinas, taninos, inibidores de amilase e saponinas têm mostrado reduzir as respostas de insulina e glicose no sangue, triglicerídeos e colesterol plasmático em humanos e animais. Adicionalmente o ácido fítico, taninos, saponinas e inibidores de protease estão associados à redução de riscos de desenvolvimento de câncer. Portanto, é evidente que efeitos benéficos e adversos são atribuídos aos fatores antinutricionais do feijão, sendo em muitos casos, as mesmas interações de seu comportamento antinutritivo, responsável pelos seus efeitos benéficos. Contudo é indubitável que os efeitos fisiológicos dos antinutrientes do feijão estão relacionados ao seu nível de ingestão e às condições em que eles são consumidos (presença de outros constituintes alimentares, estado nutricional e estado de saúde do indivíduo). Portanto para fazer um balanço entre os riscos e benefícios dos antinutrientes do feijão é necessário que se identifique as concentrações presentes nos grãos e as quantidades usualmente consumidas, fazendo-se necessário estudos de dose-resposta em que há identificação de benefícios sem constatação de efeitos adversos.

Referências Bibliográficas

ABDULLAEV, F. I., MEJIA, E. G. Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 47(3):195-202, 1997

ABDULLAEV, F. I., MEJIA, E. G. Inhibition of colony formation of Hela cells by naturally occurring and synthetic agents. **BioFactors**, 6(1):1-6, 1996

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. **Diabetes Care**, 26(1):S51-S61, 2003

ANDERSON, J. W., SMITH, B. M., WASNOCK, C. S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal of Clinical Nutrition**, 70(suppl):464S-474S, 1999

ANTUNES, P. L., SGARBIERI, V. C. Effect of heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry bean (*Phaseolus vulgaris*, L. var. Rosinha G2) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, 28:935-938, 1980

AREAS, M. A., REYES, F. G. R. Fibras alimentares: Diabetes mellitus. **Cadernos de Nutrição da SBAN**, 12: 01-08, 1996

AW, T. L., SWANSON, B. G. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. **Journal of Food Science**, 50(1): 67-71, 1985

AZEVEDO, L. **Estudo dos efeitos mutagênicos e antimutagênicos do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) e de antocianinas em camundongos**. Viçosa, MG:UFV, 2000. 114p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 2000

BALMIR, F., STAACK, R., JEFFREY, E., et al. Na extract of soy fluor influences serum cholesterol and thyroid hormones in rats and hamsters. **Journal of Nutrition**, 126:304-, 1996

BARDOCZ, S., GRANT, G., DUGUID, T., BROWN, D, SAKHI, M., PUSZTAI, A., PRYME, I., MAYER, D., WAY, B. Phytohaemagglutinin in the diet induces growth of the gut and modifies some organ weights in mice. **Medicine & Science Research**, 22:101-103, 1994

BELITZ, H. D., GROSCH, W. Química de los alimentos. Ed. Acribia España: Zaragoza, pp. 813, 1988

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic effect of soy protein. **Nutrition**, 18(7/8):684-686, 2002

BODWELL, C. E., SATTERLEE, L. D., HACKLER, L. R. Protein digestibility of the same protein preparations by human and rat assays and by in vitro enzymic digestion methods. **American Journal of Clinical Nutrition**, 33:677-686, 1980

BRAVO, L. Polyphenol: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Review**, 56(11):317-333, 1998

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Review International**, 9:237-297, 1993

BRESSANI, R., ELIAS, L. G. Relación entre la digestibilidad y el valor proteínico del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 34(1): 189-197, 1984

BRESSANI, R., ELIAS, L. G. The nutritional role of polyphenols in beans. In: Hulse, J, H. **Polyphenols in cereals and Legumes**, Ottawa, Canada, 1980. p. 61-72

BRESSANI, R., ELIAS, L. G., WOLZACK, A. *et al.* Tannin in common beans: methods of analysis and effects on protein quality. **Journal of Food Science**, 48:1000-1003, 1983

BRESSANI, R., MORA, D. R., FLORES, R. *et al.* Evaluation de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 41(4):569-583, 1991

CARAGAY, A. B. Cancer protective foods and ingredients. **Food Technology**, 46:65-68, 1992

CARMONA, A., BORGUDD, L., BORGES, G., LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **Nutritional Biochemistry**, 7:445-450, 1996

CHANG, K. C., SATTERLEE, L.D. Isolation and charecterization of the major protein from Greath Northern beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science**, 46(4):1368-1373, 1981

CHIARADIA, A. C. N. **Determinação da estrutura de pigmentos de feijão e estudo da sua ação na qualidade protéica.** Viçosa, MG:UFV, 1997. 107p. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1997

CHIARADIA, A.C., GOMES, J.C., COSTA, N. M. B. Retirada do tegumento e da extração dos pigmentos na qualidade protéica do feijão-preto. **Revista de Nutrição**, 12(2):131-136, 1999

CHUNG, K-T., WONG, T-Y., WEI,C-I, HUANG, Y-W, LIN, Y. Tannins and human health: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 38(6):421-464, 1998

COELHO, R. G. Considerações sobre as proteínas do feijão. **Revista de Nutrição, PUCCAMP**. 4:122-145, 1991

COELHO, J. V., LAJOLO, F. M. Evolução dos fenólicos totais e taninos condensados (proantocianidinas) durante o desenvolvimento das sementes do feijão (*Phaseolus vulgaris L.*). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, 43(1):61-65, 1993

COUDRAY, C., BOUSSET, C., PÉPIN, D., TRESSOL, JC., BELANGER, J., RAYSSIGUIER, Y. Effect of acute ingestion of polyphenol compounds on zinc and copper absorption in the rat. Utilisation of stable isotopes and ICP/MS technique. In: **Polyphenols in foods**. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop. Aberdeen, Scotland. 173-178, 1997

CRUZ, G. A. D. R. **Avaliação da qualidade e digestibilidade *in vivo* da proteína de cultivares de feijão.** Viçosa, MG:UFV, 2000. 68p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2000

DAVIS, AB., HOSENEY, RC. Grain sorghum condensed tannins. Isolation, estimation, and selective adsorption by starch. **Cereal Chemistry**, 56:310-317, 1979

DECKER, EA. Phenolics: Prooxidants or antioxidants?. **Nutritional Reviews**, 55(1):396-398, 1997

DESHPANDE, S. S., CHERYAN, M. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. **Journal of Food Science**, 50:905-910, 1985

DESHPANDE, S. S., SATHE, S. K., SALUNKE, D.K. *et al.* Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L). **Journal of Food Science**, 47(6):1846-1850, 1982

DESHPANDE, S. S., SATHE, S. K., SALUNKHE, D. K. Interrelationship between certain physical and chemical properties of dry beans. **Quality Plant Plant Foods Human**, 34:53-65, 1984a

DÍAZ, P. O., PÉREZ, L. A. B., ACEVEDO, E. A., TORRES, A. V. TOVAR, J., LÓPEZ, O. P. In vitro digestibility and resistant starch content of some industrialized commercial beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, 78:333-337, 2002

DOMINGUEZ, B. M., GOMEZ, I. V., LEON, F. R. Acido fítico:Aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 52(3):219-231, 2002

ELIAS, L.G., FERNANDEZ, D. G., BRESSANI, R. Possible effects of seed coat polyphenolics an the nutritional quality of bean protein. **Journal of Food Science**, 44(2):524-527, 1979

EVANS, R. J., BAUER, D. H. Studies of the poor utilization by the rat of methionine and cystine in heated dry bean seed (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington Dc, 26(4):779-784, 1978

FUKUDA, G., ELIAS, L. G., BRESSANI, R. Significado de algunos factores antifisiológicos y nutricionales en la evaluación biológica de diferentes cultivares de frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, 32(4):945-960, 1982

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food color**, New York, Academic Press, 1982. p. 181-207

FROKLER, H., JORGENSEN, T., ROSENDAL, A., TONSGAARD, M., BARKHOLT, V. **Antinutritional and Allergenic Proteins**. In SHAIDI, F (Ed.). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997. p.44-60

GEIL, P. B., ANDERSON, J. W. Nutrition and health implications of dry beans. A review. **Journal of the American College of Nutrition**, 13(6):549-558, 1994

GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Atividade inibitória de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): avaliação crítica dos métodos de determinação. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 51(4):386-394, 2001

GILANI, G. S., RATNAYAKE, W. M. N., BROOKS, S. P. J., et al. Effects of dietary protein and fat on cholesterol and fat metabolism in rats. **Nutrition Research**. 22:297-311, 2002

GOLDSTEIN, J.L., SWAIN, T. Changes in tannin in ripening fruits. **Phytochemical**. 2:371-85, 1963

GOYCOOLEA, F., GONZALES, E., BARRON, J.M. Efecto de los tratamientos caseros en las preparaciones de frijol pinto (*Phaseolus vulgaris*) sobre el contenido de taninos y valor nutritivo de las proteínas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, 15(2):263-273, 1990

GRIFFITHS, LA., BARROW, A. Metabolism of flavonoid compounds in germ-free rats. **The Journal of Biochemistry**, 130:1161-1162, 1972

HAGERMAN, AE., BUTTLER, LG. Determination of protein in tannin-protein precipitates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 28:944-959, 1980

HARBONE, J.B. The flavonoids: Advances in research since 1986. Chapman and Hall. Ed., London, pp.676, 1993

HERRERA, I. M., GONZALES, E. P., ROMERO, J. G. Fibra dietetica soluble, insoluble y total en leguminosas crudas y cocidas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 48:179-182, 1998

HERTOG, MGL, KROMHOUT, D, ARAVANIS, C., BLACKBURN, MD., BUZINA, R., FIDANZA, F., GIAMPAOLI, S., Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **The Archives of Internal Medicine**, 155:381-386, 1996

HERTOG, MGL., HOLLMAN, PCH. Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. **European Journal of Clinical Nutrition**, 50:63-71, 1996

HERTOG, MGL., KROMHOUT, D., ARAVANIS, C., BLACKBURN, H., BUZINA, R., FIDANZA, F. Flavonoid intake and long term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries. **The Archives of Internal Medicine**, 155:381-386, 1995

HOLM, H., RESELAND, J. E., THORSEN, L., M FLATMARK, A., HANSEEN, L. E. Raw soybeans stimulate human pancreatic proteinase secretion. **Journal of Nutrition**, 122:1407-1416, 1992

HUFF MW, CARROL, K. K. Effects of dietary protein on turnover, oxidation and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. **Journal of Lipids Research**, 21:546-, 1980

HUGHES, J. S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Technology**. 45(9):122-126, 1991

HUGHES, J., ACEVEDO, E., BRESSANI, R., SWANSON, B. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**, 29(3-4):331-338, 1996

HURREL, RF, REDDY,M., COOK, JD. Influence of polyphenol-containing beverage on iron absorption In: **Polyphenols in foods**. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop. Aberdeen, Scotland 169-172, 1997

ISHIMOTO, M., YAMADA, T., KAGA, A. Insecticidal activity of an K-amylase inhibitor-like protein resembling a putative precursor of K-amylase inhibitor in the common bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Biochimica et Biophysica. Acta** 1432, p. 194-112, 1999.

JIMENEZ-RAMSEY, LM., ROGLER, JC., HOUSLEY, TL. Absorption and distribution of ¹⁴C-labelled condensed tannins and related sorghum phenolics in chickens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42:963-967, 1994

KERN, M., ELLISION, D., MARROQUIN, Y., AMBROSE, M., MOISER, K. Effects of soy protein supplemented with methionine on blood lipids and adiposity of rats. **Nutrition**, 18:654-656, 2002

KNEKT, P., JÄRVINEN, R., SEPPÄNEN, R., HELIÖVAARA, M., TEPPÖ, L., PUKKATA, E., Y AROMAA, A. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. **American Journal of Epidemiology**, 146(3):223-230, 1997

KRITCHEVSKI, D. Dietary fiber. **Annals of Review Nutrition**, 8:301-328, 1988

KRITCHEVSKI, D., TEPPER, S., CZARNECHI, S., KLURFELD, D. Atherogenicity of animal and vegetable protein. Influence of the arginine/lysine ratio. **Atherosclerosis**, 41:429-, 1982

KUTOS, T., GOLOB, T., KAE, M., PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**, 80:231-235, 2003

LIENER, I. Plant Lectins: Properties, Nutritional significance, and function. In: Shaidi, F (Ed). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**, Washington, DC., 1997. p. 31-43

LIENER, I. From soybeans to lectins: a trail of research revisited. **Carbohydr. Res**, 203(4):1-5, 1991

LIENER, I., KAKADE, M. Protease inhibitors. In: LIENER, I (Ed). **Toxic Constituents of Plant Foodstuffs**. Minnesota: Academic Press, 1980, p.7-71

LOBO, A. R., SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, 16(2):219-226, 2003

MANGAN, J. L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutrition Research Reviews**, 1:209-231, 1988

MARKAKIS, P. Analysis of anthocyanins. In Markakis, P. Ed. **Anthocyanins as Food Colors**, New York, Academic Press, p 163-178, 1982

MARTINEZ-VALVERDE, I., PERIAGO, M.J., ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 50(1):5-18, 2000

MARTINEZ, D. B., IBÁÑEZ, G. V., RINCÓN, L. F. Acído fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 52(3):219-231, 2002

MASON, V. C. Metabolism of nitrogenous compounds in the large gut. **Proceedings of the Nutrition Society**, 43:45-53, 1984

MESSINA, M. & BARNES, S. The role of soy products in reducing risk of cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, 83:541-546, 1991

MESSADI, D., BILLINGS, P., SHKLAR, G., KENNEDY, A. Inhibition of oral carcinogenesis by a protease inhibitor. **Journal of the National Cancer Institute**, 76:447-452, 1986

MESSINA, M. & MESSINA, V. Increasing use of soybean and their potential role in cancer prevention. **Journal of the American Dietetic Association**, 91:836-840, 1991

MOLINA, M. R., LA FUENTE, G., BRESSANI, R. Interrelationships between storage, soaking time, nutritive value and other characteristics of the black bean (*Phaseolus Vulgaris*). **Journal of Food Science**, 40:587-591, 1975

MORITA, T., OH-HASHI, A. cholesterol lowering effects of soybean, potato, and rice proteins depend on their low methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. **Journal of Nutrition**, 127:470-, 1997

NACZK, M., AMAROWICZ, R., SHAHIDI, F. α -Galactosides of sucrose in foods:Composition, flatulence-causing effects, and removal. In: Shaidi, F (Ed). **Antinutrients and phytochemicals in food**. Washington, DC., 1997. p. 31-43

NAGATA, Y, ISHIWAKI, N., SUGANO, M. Etudies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. **Journal of Nutrition**, 121:1614-, 1982

NELSON, IR. Y CUMMINGS, DG. Effect of tannin content and temperature on storage of propionoc acid treated grain sorghum. **Agronomy Journal**, 67:71-76, 1975

NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**, 45(6):112-114, 1991

NWOKOLO, E. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) In: **Legumes and Oilseeds in Nutrition**. Nwokolo, E. and Smartt, J., Eds., Chapman and Hall, London, U. K., pp.159-172, 1996a

OLIVEIRA, A. C., QUEIROZ, K. S., HELBIG, E., REIS, S. M. P.M., CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 51(3):276-283, 2001

OLIVEIRA, A. C., REIS, S. M. P. M., et al. Adições crescentes de ácido fólico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Revista de Nutricion**, Campinas, 16(2):211-217, 2003

OSBORN, T. C. Genetic control of bean seed protein. **Agronomy Journal**, 7:93-116, 1988

OSMAN, M., REID, P., WEBER, C. Thermal inactivation of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*), soybean and lima bean protease inhibitors: Effect of acidic and basic pH. **Food Chemistry**, 78:419-423, 2002

PEREIRA, C. A. S. **Digestibilidade in vitro e in vivo de proteínas do feijão preto sem casca**. Viçosa, MG:UFV, 1998. 72p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1998

PEREIRA, C. A. S., COSTA, N. M. B. Proteínas do feijão preto sem casca: digestibilidade em animais convencionais e isentos de germes (germ-free). **Revista de Nutrição**, Campinas, 15(1):5-14, 2002

PEREZ-MALDONADO, R. A., NORTON, B. W., KERVEN, G. L. Factors affecting in vitro formation of tannin-protein complexes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 69:291-298, 1990

PERIM, J. D. **Efeito de diferentes copigmentos sobre a estabilidade de antocianinas extraídas de berinjela (*Solanum melongena* L.)** Viçosa: UFV, 1999. 79p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade federal de Viçosa, 1999

PETTERSON D. F., HARRIS, D. J., BLAKENEY, A. B., CHOCT, M R. Methods for the analysis of premium livestock grains. **Australian Journal of Agricultural Research**, 50(5):775-788,1999

POEL, T. F. B., BLONK, J., ZUILICHEM, D. J., OORT, M. G. Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) and effects on protein quality. **Journal of Science and Food Agriculture**, 53(2):215-228, 1990

POTTER, S. M. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. **Journal of Nutrition**, 125:606S-609S, 1995

PRATT, DE. Natural antioxidant from plant material. In: HUANG, MT., HO, CT., LI, CY. Eds., ACS Symposium Series 507. Phenolic compounds in food and their effects on health II. Antioxidants and câncer prevention. **American Chemical Society**, Washington, DC. 54-68, 1992

PRATT, DE., HUDSON, B.J.F. Natural antioxidant no exploited commercially. In:Hudson, B.J.F. De Elsevier Appliede Sciences. **Food Antioxidants**, London, 171-180, 1990

PUSZTAI, A., EWEN, S., GRANT, G., BROWN, D., STEWART, J., PEUMANS, W., VAN DAMME, E., BARDOCZ, S. Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. **The British Journal of Nutrition**, 70:313-321, 1993

REDDY, N. R., PIERSON, M. D., SATHE, S. K. *et al.* Dry bean tannins: A review of nutritional implications. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, 62:541-549, 1985

REYES-MORENO, C., PAREDEZ-LÓPEZ, O. Hard-to-cook phenomenon in common beans: a review. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, 33(3)227-286, 1993

ROEBUCK, B. D. Trypsin inhibitors: potential concern for humans? **The Journal Food and Nutrition**, 117(9):389-400, 1987

ROBINSON, D. **Food Biochemistry & nutritional Value**, New York: Longman Scientific Technical, 1987. 554p

SAGUM, R., ARCOT, J. Effect of domestic processing methods on the starch, non-starch polysaccharides and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. **Food Chemistry**, 70:107-111, 2000

SALUNKHE, D. K., JADHAV, S. J., KADAM, S. S., et al. Chemical biochemical and biological significance of polyphenols in cereals and legumes. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 17(3):277-305

SATHE, S. K. Dry bean protein functionality. **Critical Reviews in Biotechnology**, 22(2):175-223, 2002

SATHE, S. K., DESHPANDE, S. S., SALUNKE, D. K. Dry beans of Phaseolus. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fibre, minerals, vitamins and lipids. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 21(1):41-93, 1984

SATUÉ-GRACIA, MT., HEINONEN, M., FRANKEL, EN., Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecitin-liposome systems. **J Agricultural and Food Chemistry**, 45:3362-3367, 1997

SAVELKOUL, F. H. M. G., VAN DER POEL, A. F. B., TAMMINGA, S. The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination. A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, 42:71-85, 1992

SEGUEILHA, L., MOULIN, G., GALKZY, P. Reduction of phytate content in wheat bran and glandless cotton flour by *Schwanniomyces castellii*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 41:2451-2454, 1993

SFAKIANOS, J., COWARD, L., KIRK, M., BARNES, S. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. **Journal of Nutrition**, 127:1260-1268, 1997

SHAHIDI, F., WANASUNDARA, P. Cyanogenic glycosides of flaxseeds. In: SHAHIDI, F (Ed). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997b. P. 171-185

SHAHIDI, F. Preface. In:Shaidi, F (Ed). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC. 1997a. p. vii

SHAI, F. Beneficial health effects and drawbacks of antinutrients. In:Shaidi, F (Ed). **Antinutrients and Phytochemicals in Food**. Washington, DC., 1997b. p. 1-9

SIDHU, G. S. & OAKENFUL, D. G. A mechanism for the hypocholesterolemic activity of saponins. **The British Journal of Nutrition**, 55:643-649, 1986

SLAVIN, J. JACOBS, D. MARQUAT, L. Whole grain consumption and chronic disease protective mechanisms. **Journal of Nutrition Cancer**, 1:14-21, 1997

ST. CLAIR, W., BILLINGS, P., KENNEDY, A. The effects of the Bowman-Birk protease inhibitor on c-myc expression and cell proliferation in the unirradiated and irradiated mouse colon. **Cancer Letters**, 52:145-152, 1990

SZKUDELSKI, T. Phytic acid-its influence on organism. **Journal Animal Feed Science**, 6:427-438, 1997

THOMPSON, L. U. Antinutrients and blood glucose. **Food Technology**, 42:123-132, 1988

THOMPSON, L. U. Review Paper: Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. **Food Research International**, 26:131-149, 1993

TIMBERLAKE, C. F. The biological properties of anthocyanins. **Quarterly Information Bulletin**, NATCOL. 1:4-15, 1988

TORRE, M., RODRIGUEZ, A. R., SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Food Science and Nutrition**, 1(1):1-22, 1991

TREVIÑO, J., ORTIZ, L., CENTENO, C. Effect of tannins from faba beans (*Vicia faba*) on the digestion of starch by growing chicks. **Animal Feed Science and Technology**, 37:345-349, 1992

TSUDA, T., OHSHIMA, K., KAWAKISHI, S., et al. Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42:248-257, 1994a

TSUDA, T., WATANABE, M., OHSHIMA, K., et al. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyaniding 3-O- β -D-glucoside and cyanidin. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, 42:2407-2410, 1994b

VAN BUREN, J.P., ROBINSON, W.B. Formation of complexes between protein and tannic acid. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, 17:772-777, 1969

WANG, H. CAO, G., PRIOR, RL. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 44:701-705, 1996

WATSON, TG. Inhibition of microbial fermentation by sorghum grain and malt. **Journal of Applied Bacteriology**, 1975

WELCH, R., HOUSE, W., BEEBE, S., CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(25):3576-3580, 2000

WHITAKER, J. Enzymes. In: Fennema, O.R. **Food Chemistry**, 3.ed. New York:Marcel Dekker, Inc. 1996. p. 431-530

WITSCHI, H., KENNEDY, A. Modulation of lung tumor development in mice with the soybean-derived Bowman-Birk protease inhibitor. **Carcinogenesis**, 10:2275-2277, 1989

WOLEVER, T. M. S. The glycemic index. **World Review of Nutrition and Dietetics**, 62:120-125, 1990

YAMADA, T., HATTOR, K., ISHIMOTO, M. Purification and characterization of two α -amylase inhibitors from seeds of tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray). **Phytochemistry**, 58:59-99, 2001

YAPER, Z., CLANDININ, DR. Effect of tannins in rape seed meal on its nutritional value for chicks. **Poultry Science**, 52:222-228, 1972

ZIENA, H.M, YOUSSEF, M. M., EL-MAHDY, A. R. Amino acid composition and some antinutritional factors of cooked faba beans (medamnins): Effects of cooking temperature and time. **Journal of Food Science**, 56(5):1347-1349, 1991

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE PROTÉICA DE DIFERENTES VARIEDADES DE FEIJÃO

Resumo

É inquestionável a importância do feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.) na dieta da população brasileira como fonte de energia, proteína, vitaminas, minerais e fibras. Entretanto, suas proteínas apresentam baixos teores e biodisponibilidade reduzida de aminoácidos sulfurados. A qualidade protéica é ainda influenciada pela presença de fatores antinutricionais, que podem estar presentes em diferentes teores, de acordo com a variedade do feijão. Assim objetivou-se avaliar a qualidade protéica (Coeficiente de Eficácia Protéica-PER, Razão Protéica Líquida-NPR e digestibilidade) de cinco variedades de feijão: Ouro Branco, Pérola, BRS Radiante, Diamante Negro e Talismã.

Quarenta e dois ratos machos da linhagem Wistar, recém-desmamados, divididos em sete grupos experimentais, com seis ratos cada, foram alimentados durante o período de quatorze dias com dieta semi-purificada (AIN-93G) e dietas testes, baseadas em uma adaptação da dieta AIN-93G, de modo a fornecer entre 9 e 10% de proteína derivadas das variedades de feijão. Foram observadas diferenças nos valores de PER e PER (%) entre as

variedades de feijão e destas com relação à caseína, existindo diferenças estatísticas entre os feijões Ouro Branco e BRS Radiante, não ocorrendo o mesmo para o NPR e NPR (%), indicando que a diferença estatística só existe com relação à caseína. Este fato também foi observado na digestibilidade.

Os dados de PER, NPR e digestibilidade verdadeira, relativos à caseína, foram 3,81, 4,37 e 94,60%, respectivamente.

O PER das diferentes variedades de feijão variou de 1,72 a 2,34, o NPR de 2,94 a 3,42 e a digestibilidade de 78,70 a 84,88%. De acordo com o estudo realizado conclui-se que a variedade Ouro Branco apresentou a melhor qualidade nutricional e a variedade BRS Radiante apresentou menor qualidade protéica, indicando que a presença de fatores antinutricionais como os taninos estejam contribuindo na redução da qualidade protéica.

Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é a leguminosa mais amplamente cultivada e consumida de todos os feijões secos. Nos últimos 40 anos a produção mundial do feijão tem sofrido um incremento de 68,5%. O continente americano, no ano 2000, apresentou 36,38% da produção mundial do feijão, e o Brasil, depois da Índia, foi o segundo maior produtor com 16,13% (Sathe, 2002). Registra-se ainda que o Brasil é o maior consumidor, apesar de ter havido um declínio no consumo, de 19 kg/hab/ano da década de 1990 para 15 kg/hab/ano no início da década atual, influenciado principalmente pelo processo de urbanização, com suas grandes alterações nos hábitos alimentares (CONAB, 2002).

É conhecido o fato que o feijão é uma importante fonte de nutrientes, principalmente nos países da América do Norte e da América do Sul (Abdullaev e Mejía, 1997). Além de ser considerado a “carne do homem pobre”, por fornecer uma alta quantidade de proteína a baixo custo, contém em média de 8 a 10% de umidade, 15 a 25% de proteína, 50 a 60% de carboidrato, 3 a 5% de fibra, 3 a 4% de cinza e baixos níveis de lipídios, menores que 5% (Sathe, 2002). Adicionalmente é uma boa fonte de fibra solúvel e de algumas vitaminas e minerais (Coelho, 1991; Welch et al, 2000; Sathe, 2002; Kutos et al, 2003). O

feijão também contém baixos teores de sódio e por serem de origem vegetal, não contém colesterol (Kutos et al, 2003).

Entretanto, um dos maiores problemas do feijão é representado pelo baixo valor nutricional de suas proteínas, decorrente, por um lado, da sua baixa digestibilidade e, do outro, do teor e biodisponibilidade reduzidos de aminoácidos sulfurados (Evans & Bauer, 1978; Antunes & Sgarbieri, 1980; Fukuda et al, 1982 citados por Pereira e Costa, 2002).

Dentre os múltiplos fatores envolvidos na baixa digestibilidade das proteínas têm sido citados, além dos fatores relacionados à própria estrutura das proteínas, a presença de fatores antinutricionais como inibidores de proteases, componentes ligados à casca e cotilédones como taninos e fitatos, assim como alterações inerentes ao processamento e armazenamento (Genovese e Lajolo, 2001). Os taninos são compostos fenólicos hidrossolúveis capazes de formar complexos com as proteínas e enzimas digestivas do alimento (Martínez-Valverde et al, 2000). Estas substâncias encontram-se em maior concentração na casca de feijões coloridos (Bressani, 1991). O ácido fítico é outro dos compostos com atividade antinutricional devido a sua capacidade de formar complexos insolúveis com as proteínas e enzimas, sendo esses complexos não assimiláveis para o organismo (Domínguez et al, 2002; Oliveira et al, 2003).

O tempo e as condições de armazenamento do feijão, tais como a temperatura e a umidade relativa elevada levam ao endurecimento do grão, provocando maior tempo de cocção e em consequência diminuição do valor nutricional (Michaels et al, 1991 citado por Sabarense, 1995).

Até o momento, diversos trabalhos de melhoramento genético têm sido desenvolvidos, obtendo-se variedades de feijão com melhores características agronômicas, buscando o aumento da produtividade, além da resistência a pragas e doenças. No entanto, mediante as novas exigências do mercado consumidor, busca-se a obtenção de linhagens com grãos de qualidade tecnológica superior, agregando valor ao grão pelo aumento de suas propriedades nutricionais e funcionais.

Desta forma, torna-se essencial o conhecimento do valor nutricional destas variedades, para acrescentar informações que permitam dar mais

subsídios aos trabalhos de melhoramento genético, orientando assim, a produção de cultivares que atendam ao consumidor e ao produtor.

Objetivou-se através deste estudo avaliar a qualidade protéica de cinco variedades de feijão correspondente aos grupos branco (Ouro Branco), preto (Diamante Negro) e carioca (BRS Radiante, Pérola e Talismã).

Metodologia

Animais, dietas e desenho experimental

Foram utilizados 42 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*) recém desmamados, oriundos do Biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (Universidade Federal de Viçosa, Brasil), com peso médio inicial de 57,7g, distribuídos aleatoriamente em sete grupos de seis animais. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais em ambiente com fotoperíodo de 12 horas e temperatura média de 26°C.

Utilizaram-se cinco variedades de feijões (*Phaseolus vulgaris L.*), correspondente aos grupos branco (Ouro Branco), preto (Diamante Negro), vermelho (BRS Radiante) e marrom (Pérola e Talismã). As variedades Ouro Branco, Pérola, BRS Radiante e Diamante Negro, fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizada em Goiânia, e a variedade Talismã, fornecida pela Universidade Federal de Viçosa (Fig. 1). Estas variedades foram recém colhidas e armazenadas em freezer por 2 meses até o início do experimento.

Os grãos foram submetidos à cocção em água, na proporção de 1:1,5 (P/V), em panela de pressão durante 30 minutos, exceto a variedade Diamante Negro cujo tempo de cocção foi de 40 minutos e a qual foi adicionada mais 0,5 L de água. O feijão cozido foi seco em estufa com circulação de ar forçado, a 65 °C, por 10 horas, exceto a variedade BRS Radiante que foi seca por 7 h e, em seguida as variedades foram moídas em multiprocessador doméstico.

O teor de proteína da farinha de feijão foi determinado pelo método de semi-micro *Kjeldahl* (AOAC, 1998), multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

O desenho experimental foi constituído de 6 tratamentos testes, utilizando-se dietas semi-purificadas, com base em uma adaptação da dieta AIN-93G (Reeves et al, 1993) de modo a fornecer entre 9 e 10% de proteína. Cada grupo foi alimentado com uma das seguintes dietas por 14 dias: aprotéica ou livre de nitrogênio (LN), dieta de caseína como padrão (CAS) e as outras cinco dietas cujas fontes protéicas derivavam de cada uma das variedades de feijão: Ouro Branco (D1), Pérola (D2), BRS Radiante (D3), Diamante Negro (D4) e Talismã (D5), conforme Tabela 1. Os animais receberam água destilada e suas respectivas dietas *ad libitum*. As dietas de feijão não foram acrescidas de celulose em função do elevado teor de fibras alimentares desse ingrediente.



Figura 1. Variedades de feijões correspondente aos grupos branco (Ouro Branco), preto (Diamante Negro), vermelho (BRS Radiante) e marrom (Pérola e Talismã).

Tabela 1: Composição das dietas experimentais

Ingredientes (g/100g)	Dietas						
	LN	CAS	D1	D2	D3	D4	D5
Caseína	-	11,56	-	-	-	-	-
Farinha de feijão Ouro Branco ¹	-	-	43,88	-	-	-	-
Farinha de feijão Pérola ¹	-	-	-	45,36	-	-	-
Farinha de feijão BRS Radiante ¹	-	-	-	-	46,27	-	-
Farinha de feijão Diamante Negro ¹	-	-	-	-	-	43,66	-
Farinha de feijão Talismã ¹	-	-	-	-	-	-	44,37
Maltodextrina ²	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2
Celulose microfina ³	5,0	5,0	-	-	-	-	-
Sacarose ⁴	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Óleo de soja ⁴	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Mistura salínica ^{5,*}	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica ^{3,*}	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
L-cistina ³	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Bitartarato de colina ³	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido de milho (q.s.p.) ⁴	59,75	48,19	20,87	19,39	18,48	21,09	20,38
Proteína (%)	-	9,93	9,23	9,35	9,0	9,37	10,29

¹ Farinha obtida a partir das amostras de feijão analisadas

² Obtido da Tangará – Importadora e Exportadora Ltda.

³ Obtido da Rhoster Indústria e Comércio LTDA

⁴ Obtido no comércio de Viçosa, MG

* Segundo Reeves et al. (1993)

⁵ Elaborado no laboratório do Departamento de Nutrição e Saúde - UFV

O consumo alimentar e o peso corporal dos animais foram registrados semanalmente. A ingestão alimentar foi utilizada para o cálculo do coeficiente de eficiência alimentar, bem como o cálculo de digestibilidade das fontes protéicas.

Para a determinação da digestibilidade, no 8º e 11º dias os animais receberam dieta adicionada de corante indigocarmin, na proporção de

100mg/100g para obtenção de fezes marcadas. As fezes foram coletadas por um período de 4 dias e estocadas a 4°C. Ao término do experimento, as fezes foram secas em estufa (Fanem) com circulação de ar a 105°C por 24h, logo resfriadas em dessecador, trituradas em multiprocessador (Arno) e pesadas em balança analítica, e o nitrogênio fecal foi determinado pelo método semi-micro *Kjedahl* (AOAC, 1998).

No final do experimento, os animais foram pesados e sacrificados por asfixia com CO₂.

Avaliação da qualidade protéica

Foi determinada através do Coeficiente de Eficácia Protéica (PER), de acordo com o AOAC (1984) e Razão Protéica Líquida (NPR), de acordo com Bender e Doell, 1957 citado por Hernández et al. (1996). O PER e NPR foram calculados pelas seguintes fórmulas.

$$\text{PER} = \frac{\text{ganho de peso do grupo teste (g)}}{\text{proteína consumida pelo grupo teste (g)}}$$

$$\text{NPR} = \frac{\text{ganho de peso do grupo teste (g)} + \text{perda de peso do grupo aprotéico (g)}}{\text{Proteína consumida do grupo teste}}$$

A digestibilidade verdadeira foi calculada medindo-se a quantidade de nitrogênio ingerido na dieta, a quantia excretada nas fezes e as perdas endógenas no material fecal. Esta última foi estimada pela soma de nitrogênio excretado pelos ratos alimentados com dieta aprotéica (Amaya et al, 1991 citado por Pereira e Costa 2002), utilizando-se a seguinte fórmula.

$$Dv = \frac{I - (F - Fk)}{I} \times 100$$

I = Nitrogênio ingerido pelo grupo teste

F= Nitrogênio fecal do grupo teste

Fk= Nitrogênio fecal do grupo aprotéico

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Procedeu-se a análise de variância (ANOVA), para determinação do valor de “F”. Para “F” significativo, utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, para comparação entre as médias. Isto foi feito com o auxílio do programa SAEG-UFV.

Resultados e discussão

O teor de proteína encontrado (Tabela 2), para as diferentes variedades de feijão cozido variou de 20,53 a 21,76%. Tais valores foram superiores aos valores obtidos por Cruz (2000), exceto para a variedade Diamante Negro, cujos valores foram semelhantes. Duarte (1991) também determinou para o feijão preto um teor de 21%. Outros autores encontraram para este mesmo grupo de feijão teores de 20,9 a 27,45% (Bressani et al, 1981), de 20,65 a 22,75% (Sigh e Sood, 1997), diferindo de nosso resultado. Contudo, os resultados obtidos estão de acordo com o relatado por Sathe (2002), cujo conteúdo de proteínas em feijão comum varia entre 17,5 a 28,7%.

Tabela 2. Teor de proteínas das diferentes variedades de feijão cozido

Feijão	Proteína (%)	Proteína (%)*
Ouro Branco	21,65	18,69
Pérola	20,94	18,89
BRS Radiante	20,53	-
Diamante Negro	21,76	22,46
Talismã	21,41	-
Ouro Negro	-	15,94

* Fonte: Cruz (2000)

Os valores encontrados para as variedades Pérola (20,94%), BRS Radiante (20,53%) e Talismã (21,41%), classificados dentro do grupo carioca, encontram-se dentro da faixa dos valores determinados por Cruz (2000), que relatou teores de 17,12 a 23,28% para as variedades Carioca, Rudá, Aruã e

Aporé. Marquez et al. (1996) encontraram para as variedades Carioca Iapar, 18,8%, Carioca 80, 20,8% e Carioca IAC, 21,8%.

Os altos teores de proteínas obtidos neste experimento podem ser atribuídos ao fato de que as análises foram feitas em amostras de feijão recém colhidas armazenadas por dois meses sob congelação. Pereira e Costa (2002) relataram que a variação do teor de proteína dentro de um mesmo grupo de feijão pode ser decorrente da diferença entre os cultivares estudados, condições de plantio e armazenamento. Molina et al. (1976), citado por Sabarense et al. (1995) verificaram que as proteínas tornam-se suscetíveis ao calor do armazenamento após 6 meses em condições de temperatura e umidade relativa elevadas, influenciando principalmente o teor de lisina. Além disso, o tempo de armazenamento provoca o endurecimento dos grãos, aumentando o tempo de cocção e comprometendo a qualidade protéica (Leon et al, 1992; Molina et al, 1976).

Contra argumentando estes resultados, Sabarense et al. (1995) mostraram não haver diferenças significativas entre os valores de PER corrigido e NPR nas variedades de feijão vermelho e manteiga, em função do tempo de armazenamento e em relação aos grãos recém-colhidos, sugerindo que o tempo de armazenamento de 6 meses a temperatura ambiente não contribui para a deterioração da qualidade nutricional dos feijões.

A principal função da proteína na dieta é proporcionar ao organismo quantidades adequadas de aminoácidos para a síntese e manutenção dos tecidos corporais, no entanto, o primeiro fator dentre os diversos agentes antinutricionais próprios do grão que limita a utilização de proteínas é o grau em que se hidrolisa no trato digestivo (Hernández et al, 1996), tendo como uma das conseqüências a redução no ganho de peso.

Os ratos alimentados com as dietas controle e experimentais apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) com relação ao ganho de peso, durante os 14 dias do ensaio (Figura 2). Constatou-se um menor ganho de peso para os animais alimentados com as dietas a base de feijão, mostrando-se que as proteínas de feijão por ser de origem vegetal não são eficazes na promoção de crescimento de ratos quando comparado com a caseína de origem animal. Este fato tem sido atribuído à ausência de fibra nos alimentos de origem animal, que faz com que seja menor a velocidade do tempo de

trânsito do conteúdo intestinal e, em consequência, se tenha maior absorção dos nutrientes (Marshall et al, 1979). O ganho de peso médio para as diferentes variedades de feijão foi de 19,11 g, exceto para os feijões Ouro Branco e BRS Radiante, que foi de 25,83 e 13,33 g respectivamente.

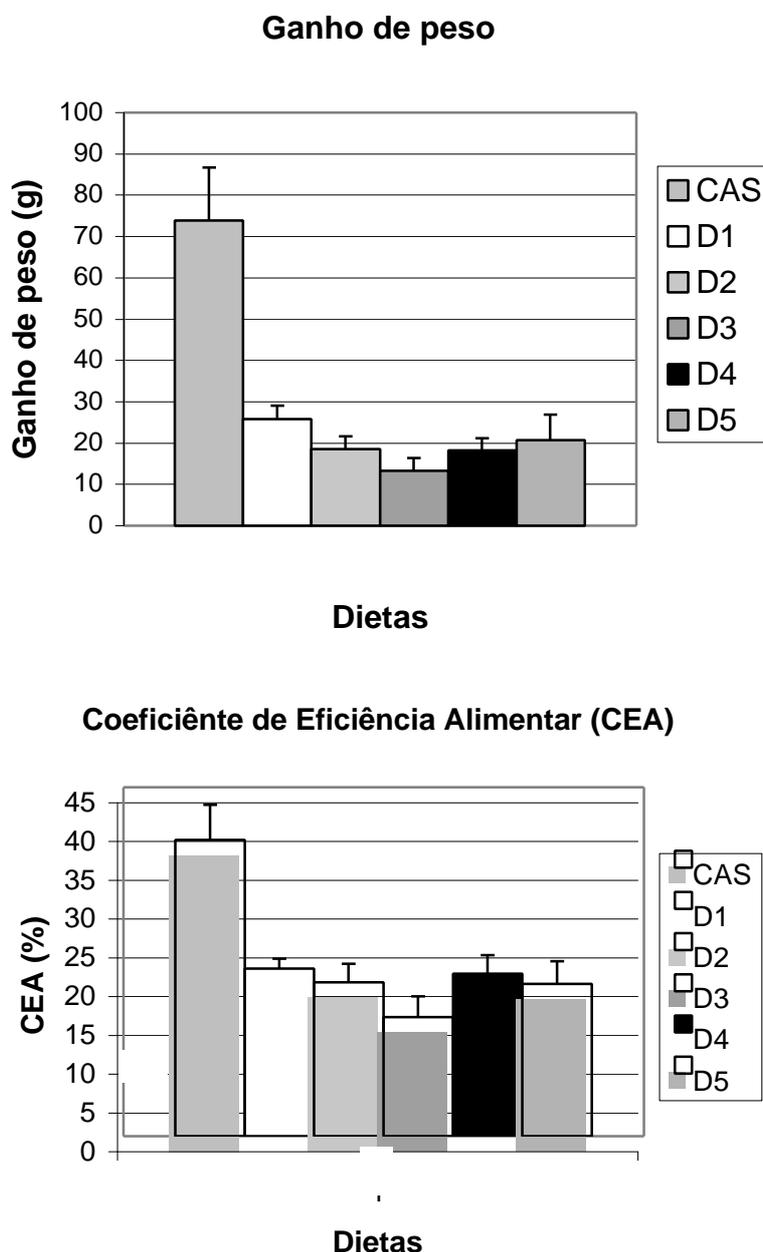


Figura 2. Ganho de peso dos ratos durante os 14 dias de experimento. Submetidos aos seguintes tratamentos: Controle (CAS), D1 (Ouro Branco), D2 (Pérola), D3 (BRS Radiante), D4 (Diamante Negro) e D5 (Talismã).

Os resultados obtidos de PER e PER (%), NPR e NPR (%) e digestibilidade são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Médias \pm Desvio padrão de PER, PER (%), NPR, NPR (%) e Digestibilidade dos diferentes tratamentos com dietas à base de feijão e caseína.

Dieta	PER *	PER (%) *	NPR *	NPR (%) *	DV
Caseína	3,81 \pm 0,45 ^a	100 ^a	4,37 \pm 0,43 ^a	100 ^a	94,60 \pm 2,20 ^a
Ouro Branco	2,34 \pm 0,14 ^b	61,18 \pm 3,60 ^b	3,32 \pm 0,21 ^b	75,83 \pm 4,72 ^{bc}	84,88 \pm 1,64 ^b
Pérola	2,12 \pm 0,26 ^{bc}	55,35 \pm 6,68 ^{bc}	3,36 \pm 0,25 ^b	76,60 \pm 5,74 ^b	78,70 \pm 2,43 ^b
BRS Radiante	1,72 \pm 0,30 ^c	44,60 \pm 7,82 ^d	3,09 \pm 0,28 ^b	70,70 \pm 6,37 ^{bc}	80,62 \pm 2,64 ^b
Diamante Negro	2,14 \pm 0,24 ^{bc}	56,00 \pm 6,36 ^{bc}	3,42 \pm 0,32 ^b	78,19 \pm 7,38 ^b	81,90 \pm 5,77 ^b
Talismã	1,91 \pm 0,28 ^{bc}	49,86 \pm 7,38 ^{cd}	2,94 \pm 0,13 ^b	67,05 \pm 2,95 ^c	79,84 \pm 4,98 ^b

* As médias dentro da mesma coluna, seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Foram observadas diferenças nos valores de PER e PER (%) entre as variedades de feijão e destas com relação à caseína, existindo diferenças estatísticas entre os feijões Ouro Branco e BRS Radiante, não ocorrendo o mesmo para o NPR, em que a diferença estatística só existe com relação à caseína. Este fato também foi observado na digestibilidade. Os dados de NPR e NPR (%) foram mais semelhantes entre as dietas à base de feijão e superiores a seu respectivo PER. No entanto, apresentaram-se inferiores à caseína em 22 e 33%.

A média do PER foi maior para a variedade Ouro Branco e inferior para a dieta do feijão BRS Radiante, diferindo das outras variedades. Os resultados estão de acordo com os obtidos por Cruz (2000) e Bressani e Elias (1984), sendo que o feijão branco apresentou melhor desempenho nutricional quando comparado com o vermelho, preto ou marrom. No entanto, entre as amostras de feijão analisadas, os valores de PER e PER (%) das variedades Pérola e Diamante Negro foram maiores aos encontrados por Cruz (2000) de 1,93 e 1,2, e 49,74 e 30,92%, respectivamente. Contrariamente a estas variedades, o BRS Radiante apresentou PER e PER (%) inferior ao relatado para a variedade Carioca, de 2,18 e 56,18%, respectivamente.

Hughes et al. (1996), em um estudo com ratos convencionais determinaram valores de PER para os feijões branco e preto de 3,20 e 2,68 respectivamente. O PER e PER (%) no 28º dia do experimento, para o feijão preto com tegumento foi de 1,21 e 37,25%, relatado por Chiaradia (1997). A variação dos valores obtidos para o PER e PER (%) das diferentes fontes protéicas estudadas e dos resultados relatados por outros autores pode ser explicado pelo fato de o PER não considerar a utilização da proteína para manutenção, utilizando-se só para promoção do crescimento, tendendo a subestimar a qualidade de proteínas inferiores e superestimar proteínas de melhor qualidade (Sgarbieri, 1987).

Os valores obtidos para NPR e NPR (%) das variedades de feijão estudadas foram significativamente menores quando comparadas com a caseína, estando em intervalos de 2,94 a 3,42 e 67,05 a 78,19%. Estes valores são maiores do que os encontrados por Cruz (2000) para as variedades Diamante Negro e Pérola, semelhante para Ouro Branco e menores para BRS Radiante e Talismã. Porém, o Diamante Negro apresentou maior valor quando comparado com outros autores que trabalharam com feijão preto (Bressani et al, 1981; Durigan et al, 1987; Duarte, 1995; Chiaradia, 1997 e Cruz, 2000).

É importante ressaltar que entre as variedades analisadas, Ouro Branco e Diamante Negro, além de apresentarem maiores valores de NPR, estes foram semelhantes entre ambas variedades, enquanto BRS Radiante e Talismã obtiveram os menores valores de NPR, sendo muito similares entre as duas variedades. A variação dos resultados pode ser dependente não apenas da expressão genética entre os cultivares estudados, mas também da diferença da localização geográfica e das condições de plantio, da qualidade das proteínas das diferentes variedades, ou da diminuição de fatores antinutricionais, total ou parcialmente eliminados durante o tratamento térmico.

A esse respeito tem-se sugerido que o descascamento ou moagem do feijão com posterior separação da casca, pode diminuir o conteúdo de taninos no grão e aumentar a qualidade nutricional (Bressani e Elias, 1980; Bressani et al, 1983; Deshpande et al, 1982; Elias et al, 1979; Salunkhe et al, 1982, citados por Chiaradia, 1997). No entanto, foram encontrados valores inferiores de PER e NPR para o feijão preto com retirada parcial do tegumento do feijão quando comparado com o feijão com tegumento após a cocção. Embora as médias

desses parâmetros não tenham apresentado diferença estatística significativa, é possível concluir que a retirada do tegumento do feijão resulta em prejuízo para a qualidade protéica, possivelmente pela presença de alguma fração protéica no tegumento que contribui para elevar a qualidade do mesmo (Chiaradia, 1997). Isto poder ser constatado neste estudo onde o feijão preto apesar de ser uma variedade pigmentada apresentou teor de proteína e parâmetros de avaliação nutricional semelhantes ao feijão branco.

Bressani e Elias (1980) acrescentaram que o cozimento não é capaz de destruir os taninos, mas estes são parcialmente removidos com o caldo do cozimento. Segundo Ziena et al. (1991), menos de 10% dos taninos totais são decompostos durante o cozimento, enquanto cerca de 50% são carregados para o líquido de cocção. Duarte (1995) encontrou valores de NPR de 2,97 e 2,22 para o feijão preto com caldo e sem caldo, e valores de 2,91 e 3,44 para o feijão carioquinha com caldo e sem caldo. Resultados de pesquisas com ratos convencionais, obtidos por Durigan et al. (1987) verificou-se também que o NPR para feijão preto Iguaçu e Rico 23 foi de 2,24 e 2,35, respectivamente. Bressani et al. (1981) estudando cinco variedades de feijão preto, encontraram valores de NPR variando entre 1,71 a 2,34.

Sabarense (1995) relatou o NPR de uma variedade vermelha recém-colhida de 1,96. Wu et al. (1996) encontraram valores de NPR e NPR (%) para uma variedade vermelha que variaram de 0,86 a 1,32 e 28,8 a 41,2%, respectivamente. Os valores encontrados por estes autores diferiram dos valores encontrados para a variedade BRS Radiante, que foi de 3,08 e 70,70%. A variabilidade destes resultados e dos obtidos neste experimento pode ter sido influenciado tanto pela natureza química como o processamento e condições de armazenamento do feijão, fazendo com que os nutrientes se apresentem mais ou menos disponíveis biologicamente, afetando os parâmetros de avaliação da qualidade protéica (Sgarbieri, 1987).

A digestibilidade é o primeiro fator que reflete a eficiência da utilização protéica da dieta, portanto, pode ser considerada um condicionante de sua qualidade (Chiaradia, 1997). Os valores obtidos no experimento para a digestibilidade verdadeira das diferentes variedades de feijão variaram de 79,84 do feijão Talismã a 84,88% do feijão Ouro Branco, inferiores aos encontrados por Cruz (2000), com valores de 88,05 a 93,97% para estas

mesmas variedades. Porém, estes valores foram próximos aos encontrados por Bressani e Elias (1984), que relataram valores de 65,7 a 83,4%. Comparando os resultados obtidos pelas diferentes variedades, verifica-se que não diferiram estatisticamente, porém o feijão branco apresentou maior digestibilidade, seguido do feijão preto.

Bressani (1989) argumenta que feijões brancos cozidos com casca têm digestibilidade mais alta (59,8%), seguidos pelos negros e roxos (51,4 e 52,9%, respectivamente). Cruz (2000), determinou digestibilidade para o feijão branco cozido com casca de 93,62%, estatisticamente igual ao valor encontrado para a caseína e com marcada diferença ao encontrado neste experimento (84,88%). Para esta mesma variedade Hughes et al. (1996) relataram 80,9%, e Bressani e Elias (1984) dados de 71,4 a 83,4%, semelhantes a nosso resultado.

Pesquisas têm relatado valores de digestibilidade para as outras variedades de feijão dos grupos preto e carioca. Hughes et al. (1996) analisaram uma variedade de feijão preto, encontrando uma digestibilidade verdadeira de 69,3%, diferindo também de nosso resultado (81,90%), e dos valores encontrados por Cruz (2000) tanto para a variedade Ouro Negro (91,00%) quanto para Diamante Negro (91,50%). Este autor também determinou a digestibilidade verdadeira das variedades Pérola e Carioca, e encontrou valores de 91,12 e 88,05%, respectivamente, diferindo dos valores encontrados neste experimento, que foram de 78,70% para Pérola e 80,62% para BRS Radiante. Wu et al. (1995), identificaram para o feijão vermelho *kidney* valores de digestibilidade verdadeira entre 72,6 e 82,1% quando foram submetidos a nove tratamentos térmicos.

Para a variedade Talismã não se tem relatado dados de digestibilidade, porquanto é uma variedade nova que está sendo pesquisada pela UFV através do programa de melhoramento genético com a finalidade de obter um grão de características desejáveis para qualidade. Esta variedade apresentou um valor de digestibilidade verdadeira de 79,84%, semelhante aos dados encontrados para as variedades Pérola, Diamante Negro e BRS Radiante.

A melhoria da capacidade de digestão não implica necessariamente no aumento da qualidade protéica, pois os aminoácidos podem estar sendo bem absorvidos, e não estar participando da síntese protéica em virtude da deficiência de alguns aminoácidos essenciais. Confirmando esta afirmação, a

variedade de feijão BRS Radiante, apesar de apresentar uma digestibilidade semelhante às outras variedades, apresentou o menor valor de PER e com diferença estatisticamente significativa quando comparado com a variedade Ouro Branco.

Outras pesquisas mostraram que a digestibilidade de feijões de tegumento colorido é menor que tegumento não colorido, e que o feijão preto tem digestibilidade mais baixa devido ao alto conteúdo de taninos, que podem estar contribuindo para a sua baixa digestibilidade (Cruz, 2000). Contrariamente a estes resultados, o nosso resultado com feijão preto não somente apresentou uma digestibilidade próxima ao feijão branco como também não diferiu das outras variedades. Podendo isso ser resultante de baixas concentrações de componentes antinutricionais existentes no grão estudado, após cocção.

Tem sido relatado que o valor nutritivo de um alimento depende da concentração, do balanço e da biodisponibilidade dos nutrientes nele contidos que, por sua vez, é influenciado pela presença de fatores antinutricionais (Sgarbieri, 1987). Dentre estes antinutrientes do feijão, os polifenóis se localizam principalmente no tegumento do grão e nas variedades coloridas, levando a formação de complexos com a proteína, tornando-as insolúveis e de baixa digestibilidade, podendo modificar a estrutura do epitélio intestinal, causando degeneração do vilos epitelial e diminuição da capacidade absorptiva do organismo (Blanco e Bressani, 1991).

Paralelamente a nosso experimento, vêm-se pesquisando outros componentes do feijão relacionados a fatores antinutricionais e biodisponibilidade de minerais utilizando-se as mesmas variedades (Cárdenas, 2003 dados não publicados, comunicação pessoal). Encontraram-se teores de taninos para o feijão cru que variaram de 182,60 do BRS Radiante a 33,38 do Ouro Branco expressos em mg de catequina/100 g de feijão. Após tratamento térmico estes teores foram reduzidos em 66% para as variedades Ouro Branco e Diamante Negro, porém para as outras variedades houve uma redução de 80%. Apesar desse resultado, persistiu um maior conteúdo de taninos na variedade BRS Radiante (37,11 mg de catequina/100 g de feijão), porém os teores de taninos nas variedades Ouro Branco, Talismã, Pérola e Diamante Negro foram menores (10,73; 17,65; 20,07; e 22,10 mg de catequina/100 g

feijão). Estes achados confirmam os baixos valores dos parâmetros de avaliação da qualidade protéica e o fato das variedades vermelho (BRS Radiante), preto (Diamante Negro) e carioca (Pérola, Talismã) terem apresentado menor digestibilidade. Além disso, foi observado que o feijão preto, apesar de apresentar um teor de tanino maior quando comparado com o feijão branco, apresentou digestibilidade verdadeira semelhante, confirmando o fato de que o tratamento com calor não só reduz o teor de taninos mas também melhora a digestibilidade das proteínas do feijão.

Experimentos desenvolvidos com frangos e ratos têm relatado que os taninos do feijão não causam diminuição do consumo alimentar, porém têm um efeito considerável na inibição do crescimento (Carmona et al, 1996). A adição do extrato de feijão fava (*Vicia Faba*) para uma dieta basal reduziu significativamente o ganho de peso, o consumo alimentar e o coeficiente de eficiência alimentar. Houve uma correlação significativa entre o nível de taninos na dieta e os parâmetros de desenvolvimento do frango (Treviño et al, 1992).

Hohlberg e Stanley (1987) e Valle-Vega et al. (1990) relatam que o processamento e preparo dos alimentos para o consumo também podem ter influência na disponibilidade biológica dos nutrientes. A cocção é a etapa de abrandamento com a absorção máxima de água pela aplicação de calor úmido. Nesta etapa, a estrutura do grão modifica-se, sendo o amido gelatinizado e as proteínas desnaturadas. Sathe & Salunkle (1981) acrescentaram que a cocção do feijão não somente produz destruição e inativação de fatores antinutricionais, mas também afeta a estrutura da proteína, tornando-a mais digerível. Boonvisut & Whitaker (1975), citados por Pereira e Costa (2002) acrescentam que a estrutura terciária da proteína afeta a digestibilidade e pode não ser facilmente destruída pelo tratamento térmico.

Outros autores relataram que os polifenóis podem migrar para dentro do cotilédone, reagindo com proteínas durante o aquecimento, diminuindo sua digestibilidade. Detectaram altas concentrações de taninos nos caldos de feijão em diferentes modalidades de preparação caseira e atribuíram a elas, juntamente com o tratamento térmico excessivo, a responsabilidade pelos baixos valores de PER encontrados em seus experimentos (Aw e Swanson, 1985; Goycoolea et al, 1982).

O descascamento reduz significativamente o conteúdo de taninos, migrando para a solução de molho. Além disso, foram detectados aumento de ácido fítico e atividade dos inibidores de tripsina, quimiotripsina e α -amilase depois do descascamento dos grãos de feijão. Atribuindo-se à presença de fatores antinutricionais na fração dos cotilédones e tegumento como substancial porção do peso dos grãos. Removendo o tegumento, haveria aumento da concentração destes fatores antinutricionais (Deshpande et al, 1982).

Outros componentes responsáveis pelo baixo valor nutritivo do feijão são usualmente atribuídos à presença de fatores tóxicos não estáveis ao calor, incluindo inibidores de tripsina e hemaglutininas (Cruz, 2000). Relata-se baixa inibição de tripsina para as variedades em estudo, variando de 0,016 do feijão Ouro Branco a 0,362 do feijão Pérola em mg tripsina/g de amostra, sugerindo que o aquecimento foi eficaz na inativação de grande parte dos inibidores de tripsina (Cruz, 2000). Estes resultados estão de acordo com análises feita por Oliveira (1997) e Duarte (1999) para feijões cozidos carioca e preto, respectivamente.

A cocção reduz em larga escala inibidores de proteases de grãos inteiros e cotilédones, mas a presença de um remanescente pode ser atribuída ao envolvimento com polifenóis nas partes anatômicas (Fernández et al, 1982). Porém é pouco provável que a presença destes, na dieta, tenha efeitos prejudiciais para o homem (Deshpande, 1992).

O grau de destruição dos inibidores pelo tratamento térmico depende da temperatura, da duração do tratamento térmico, do tamanho de partícula, e do conteúdo de umidade do alimento. O inibidor de tripsina se destrói por ação de vapor durante 15 minutos quando o conteúdo de umidade é de 20%, mas quando o conteúdo de umidade é de 60%, são suficientes 5 minutos ao vapor. Também a embebição em água durante a noite anterior à fervura por 5 minutos destrói os inibidores. Uma variedade de *P. vulgaris* aquecida a vapor a 121°C perde, em 5 minutos, 80% dos inibidores de tripsina (Lindner, 1995).

Segundo Coelho (1991), os inibidores de tripsina estariam localizados na porção mais externa da planta (tegumento ou próximo a ele). A retirada do tegumento do feijão, leva à perda de inibidores de tripsina, tornando o feijão mais deficiente em aminoácidos sulfurados encontrados nas proteases

inibidoras. Além desta perda, o teor de lisina também seria reduzido durante a cocção devido a reações com açúcares redutores existentes no feijão (reação de Maillard), não sendo, portanto, aconselhável esta prática (Chiaradia, 1997).

Alguns métodos são empregados nas indústrias para eliminação dos inibidores de proteases. Entre eles citam-se, além do processamento térmico, a fermentação, o tratamento químico, o fracionamento de proteínas e o melhoramento genético (Barbosa, 1997). No entanto, não existe uma metodologia especialmente desenvolvida e amplamente aceita para a avaliação da inativação térmica desses inibidores no feijão (Genovese e Lajolo 2001). Dessa forma, foram avaliados os métodos em uso e de possíveis interferentes. Os resultados mostraram que o meio de extração dos inibidores, o pH da reação e as condições de preparo da amostra são responsáveis por alterações significativas dos valores de atividade inibitória encontradas, necessitando cuidadosa padronização (Genovese e Lajolo 2001).

Pesquisas com diversos cultivares demonstraram que o feijão comum varia amplamente quanto à presença de inibidores de tripsina termoestáveis, e que as ligações dissulfídicas e a cisteína contribuem para a estabilização da estrutura terciária da proteína e, portanto, maior termoestabilidade desses inibidores (Rayas-Duarte et al, 1992; Pereira e Costa, 2002). Whitaker (1996) sugeriu que o valor de PER aumenta quando a quantidade de inibidor diminui.

Considerando estes achados, é possível que os inibidores de proteases não tiveram atividade fisiológica significativa nas diferentes variedades de feijão estudadas, não afetando significativamente a digestibilidade protéica do feijão cozido. Acredita-se que a temperatura e tempo de cocção influenciaram nestes resultados, otimizando a redução dos fatores antinutricionais.

Tem sido relatado que a fibra é outro interferente na digestibilidade protéica do feijão. Cruz (2000) determinou fibra alimentar total (FAT), fibra alimentar insolúvel (FAI) e fibra alimentar solúvel (FAS) para as variedades em estudo, variando de 32,62 a 38,21 para FAT, 28,92 a 34,65 para FAI e 3,70 a 6,10 para FAS. Apresentando as variedades Pérola e Carioca os maiores teores de FAI (34,65 %) e FAS (6,10 %) respectivamente. Além disso, estes dados foram mais altos que dados obtidos por outros autores, que trabalharam com o mesmo método enzimático gravimétrico.

Nenhuma correlação significativa foi observada entre a digestibilidade verdadeira e as características de atividade inibitória de tripsina e fibra alimentar total, insolúvel e solúvel das variedades em estudo (Cruz, 2000). Contrariamente a estes resultados, Hughes et al. (1996) observaram uma correlação significativa entre FAS e a redução da digestibilidade protéica, tanto *in vivo* quanto *in vitro*. Outros autores registraram que a fibra alimentar pode formar complexos no conteúdo intestinal e impedir o acesso de enzimas digestivas, reduzindo a digestibilidade de amido e proteínas (Eastwood, 1992; Melito e Tovar, 1995; Lopez et al, 1997).

Fukuda et al. (1982) observaram que o feijão cozido possui atividade hemaglutinante, taninos e inibidores de tripsina em concentrações insuficientes para prejudicar o crescimento de animais, fazendo que a simples complementação com metionina seja suficiente para elevar a qualidade nutricional de suas proteínas.

De acordo com os resultados obtidos, os taninos reduziram a digestibilidade protéica do feijão no experimento com ratos, não sendo significativo o efeito de outros antinutrientes como fibras e inibidores de proteases. Entretanto, é difícil avaliar um crescimento desfavorável dos ratos somente considerando como efeito antinutricional os taninos, pois no feijão encontram-se outros fatores antinutricionais, como os fitatos que também influenciam o valor nutritivo desta leguminosa; além disso, o feijão é deficiente em aminoácidos sulfurados, os quais são indispensáveis na síntese de proteínas.

Em estudo com ratos em cuja dieta foram utilizadas diferentes leguminosas como fonte protéica, verificaram perda de peso de aproximadamente três vezes em comparação com ratos alimentados com caseína acrescida de metionina. Os resultados foram associados à presença de ácido fítico nos grãos, resultando em um baixo valor biológico das proteínas daquelas dietas (Proll et al, 1998).

Contrariamente a estes resultados, Oliveira et al. (2003) avaliaram a influência do ácido fítico em concentrações iguais e até oito vezes superiores às encontradas no feijão comum cru *Phaseolus vulgaris* sobre o valor nutritivo da caseína, utilizando ratos Wistar. Os resultados mostraram que o valor nutritivo das dietas não foi afetado pela adição de ácido fítico, pois os valores

de NPR não diferiram entre os tratamentos, apresentando como valor médio 3,64. O consumo alimentar e a ingestão protéica reforçaram esta afirmativa.

As diferenças nestes resultados podem ser atribuídas às diferenças existentes na natureza da fonte protéica (Martínez et al, 2002).

Conclusão

Os feijões Ouro Branco, Pérola, BRS Radiante, Diamante Negro e Talismã apresentaram teores de proteína variando de 20,53 a 21,76%, o que denota o potencial dessa leguminosa como fonte protéica.

Baseando-se nos parâmetros de PER, NPR e digestibilidade, a variedade Ouro Branco ressaltou-se com um melhor desempenho nutricional e a variedade BRS Radiante obteve menor valor, diferindo das outras variedades analisadas.

Acredita-se que entre os fatores antinutricionais presentes no feijão, tais como os taninos contribuíram com a redução da digestibilidade e qualidade protéica. No entanto, é de se esperar que outros fatores inerentes ao feijão interfiram nestes parâmetros, assim como o tipo de processo ao qual o feijão é submetido.

Referências Bibliográficas

ABDULLAEV, F. I., MEJIA, E. G. Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 47(3):195-202, 1997

ANTUNES, P. L., SGARBIERI, V. C. Influence of time and conditions of storage on technological and nutritional properties of a dry bean (*Phaseolus vulgaris*, L) variety Rosinha G2. **Journal of Food Science**, Chicago. 44(6):1703-1706, 1979

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, D. C.1984

AW, T. L., SWANSON, B. G. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. **Journal of Food Science**. 50(1): 67-71, 1985

BARBOSA, M. C. A. **Determinação de inibidores de proteases em soja e em seus derivados protéicos**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 61 p. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 1997

BLANCO, A., BRESSANI, R. Biodisponibilidad de aminoácidos en el frijol (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 41(1):38-51, 1991

BOONVISUT, S., WHITAKER, J. R. Effect on heat, amylase and disulfide bond cleavage on the in vitro digestibility of soybean proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC. 24(6):1130-1135, 1976

BRESSANI, R. Revisión sobre la calidad del grano del frijol. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 39(3):419-443, 1989

BRESSANI, R., ELIAS, L. G. Relación entre la digestibilidad y el valor protéico del frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 34(1):189-197, 1984

BRESSANI, R., ELIAS, L. G., ESPANA, M. E. Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol comum (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 31(3):550-570, 1981

BRESSANI, R., MORA, D. R., FLORES, R. et al. Evaluation de dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocido y efecto que estos provocan en la digestibilidad de la proteína. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 41(4):569-583, 1991

CARMONA, A., BORGUDD, L., BORGES, G., LEVY-BENSHIMOL. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **Nutritional Biochemistry**. 7:445-450, 1996

COELHO, R. C. Considerações sobre as proteínas do feijão. **Revista de Nutrição**. 4(1):122-145, 1991

CHIARADIA, A. **Determinação da estrutura de pigmentos de feijão e estudo de sua ação na qualidade protéica**. Viçosa, MG:UFV, 1997. 68p. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1997

COELHO, J. V., LAJOLO, F. M. Evolução dos fenólicos totais e taninos condensados (proantocianidinas) durante o desenvolvimento das sementes do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**. 43(1):61-65, 1993

CONAB – Centro Nacional de Abastecimento, 2002. Disponível em www.conab.gov.br

CRUZ, G. A. D. R. **Avaliação da qualidade e digestibilidade in vivo da proteína de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)** Viçosa, MG:UFV, 2000. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2000

DESHPANDE, S., SATHE, S., SALUNKE, D. K., et al. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**. 47(6):1846-1850, 1982

DESHPANDE. S. S. Food legumes in human nutrition: a personal perspective. **Critical Review in Food Science and Nutrition**. 32:333-363, 1992

DOMINGUEZ, B. M., GOMEZ, V. I., LEON, F. R. Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 52(3):219-231, 2002

DUARTE, M. S. L. **Digestibilidade *in vivo* e *in vitro* de proteínas de feijão preto.** Viçosa, MG:UFV, 1999. 63p. Dissertação de Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1999

DUARTE, M. S. L. **Efeito do tegumento e do caldo de cocção do feijão na qualidade protéica.** Viçosa, MG:UFV, 1995. 52p. Dissertação de Tese (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1995

DURIGAN, J. F., SGARBIERI, V. C., BULISANI, E. A. Protein value of dry bean cultivars: factors interfering with biological utilization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 2(35):694-698, 1987

EASTWOOD, M. A. The physiological effect of dietary fiber. **Annual Review of Nutrition.** 12:19-35, 1992

EVANS, R. J., BAUER, D. H. Studies of the poor utilization by the rat of the methionine and cystine in heated dry bean seed (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington DC, 26(4):779-784, 1978

FERNANDEZ, R., ELIAS, L. G., BRAHAM, J. E. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in beans (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with the content of tanins and associated polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 30(4):127-131, 1982

FUKUDA, G., ELIAS, L. G. BRESSANI, R. Significado de algunos factores antifisiológicos y nutricionales en la evaluación biológica de diferentes cultivares de frijol comum (*Phaseolus sp.*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición.** 32(4):945-960, 1982

GENOVESE, M. I., LAJOLO, F. M. Atividade inibitoria de tripsina do feijão (*Phaseolus vulgaris L.*): Avaliação crítica dos métodos de determinação. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición.** 51(4):386-394, 2001

GOYCOOLEA, F., MEJIA, E. G., BRAHAM, J. E., BRESSANI, R. Trypsin inhibitors and hemagglutinins in beans (*Phaseolus vulgaris*) and their relationship with the content of tanins and associated polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 30(4):734-739, 1982

HERNÁNDEZ, T., HERNÁNDEZ, A., MARTÍNEZ, C. Calidad de proteínas. Conceptos y evaluación. **Alimentaria**. 27:27-37, 1996

HOHLBERG, A. I., STANLEY, D. W. Hard-to-cook defect in black beans protein and starch consideration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 35:571-576, 1987

HUGHES, J. S., ACEVEDI, E., BRESSANI, R., SWANSON, B. G. Effects of dietary fiber and tannins on protein utilization in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**. 29(34):331-338, 1996

KUTOS, T., GOLOB, T., KAC, M., PLESTENJAK, A. Dietary fiber content of dry and processed beans. **Food Chemistry**. 80:231-235, 2003

LEON, L. F., ELIAS, L. G. & BRESSANI, R. Effect of salt solutions on the cooking time, nutritional and sensory characteristics of common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Research International**. 25(2):131-136, 1992.

LINDNER, E. **Toxicología de los alimentos**. Segunda Edición. Zaragoza (España): Acribia, 1995. 262p.

LOPEZ, G., ROS, G., RINCON, F., PERIAGO, M. J., MARTINEZ, C., ORTUÑO, J. Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 47(3):203-207, 1997

MARQUEZ, U. M. L., BARROS, R. M. C., LAJOLO, F. M. Chemically determined total and available methionine in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and isolated protein fractions. **Food Chemistry**. 55(2):179-184, 1996

MARSHALL J. R., WALLACE, H. F., SATERLEE, L. D. Prediction of protein digestibility in vitro procedure using human, porcine and rat pancreatic preparations. **Nutrition Reports International**, 19:901-, 1979

MARTINEZ-VALVERDE, I., PERIAGO, M. J., ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 50(1):5-18, 2000

MELITO, C., TOVAR, J. Cell walls limit in vitro protein digestibility in processed legume seed. **Food**. 29(34):331-338, 1996

MOLINA, M. R., BATEN, M. A., GOMES-BRENES, R. A., KING, K. W. & BRESSANI, R. Heat treatment: a process to control the development of the hard-to-cook phenomenon in black beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science**, Chicago. 41(2):661-666, 1976

NIELSEN, S. S. Digestibility of legume proteins. **Food Technology**. 45(6):112-114, 1991

OLIVEIRA, A. C., REIS, S. M. P., CARVALHO, E. M., PIMENTA, F. M., RIOS, K. R., PAIVA, K. C., SOUSA, L. M., ALMEIDA, M., ARRUDA, S. F. Adições crescentes de ácido fólico à dieta não interferem na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas. 16(2):211-217, 2003

OLIVEIRA, L. F. A. **Efeito da ingestão da mistura de arroz e feijão na biodisponibilidade de ferro e cálcio**. Viçosa. MG:UFV. 1997. 135p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 1997

PEREIRA, C. A. S. **Digestibilidade in vitro e in vivo de proteínas do feijão preto sem casca**. Viçosa, MG:UFV, 1998. 72p. Dissertação (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1998

PEREIRA, C. A., COSTA, N. M. B. Proteínas do feijão preto sem casca: digestibilidade em animais convencionais e isentos de germes (germ-free). **Revista de Nutrição**, Campinas. 15(1):5-14, 2002

PROLL, J., PETZKE, K. J., EZEAGU, I. E., METGES, C. C. Low nutritional quality of unconventional tropical crop seeds in rats. **Journal of Nutrition**. 128(11):2014-2022, 1998

REEVES, P. G., NIELSEN, F. H., FAHEY, C. G. AIN_93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **American Institute of Nutrition**. 3166:1939-1951, 1993

SABARENSE, C. M., MENDEZ, M. H. M., DERIVI, S. C. N., FERNANDEZ, M. L. Influência das condições de armazenamento na qualidade nutricional das proteínas de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Farmacia**. 76(3):75-78, 1995a

SABARENSE, C. M., MENDEZ, M. H. M., DERIVI, S. C. N., SILVA, M. F. Influência das condições de armazenamento de feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) no endurecimento, na fração fibra da dieta e na digestibilidade. **Revista Brasileira de Farmacia**. 76:37-42, 1995b

SATHE, S. K. Dry bean protein functionality. **Critical Reviews in Biotechnology**. 22(2):175-223, 2002

SATHE, S. K., SALUNKLE, D. K. Solubilization and electrophoretic characterization of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris*) proteins. **Journal of Food Science**, Chicago. 46(25):82-87, 1981

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento**. Campinas, UNICAMP, 387p. 1987

SING, J., SOOD, D. R. Nutritional evaluation of rabi french beans. **Journal of Food Science and Technology**. 34(4):354-356, 1997

STANLEY, D. W., MICHAELS, T. E., PLHAK, L. C., *et al.* Storage induced hardening in 20 common beans cultivars. **Journal of Food Quality**. 13:233, 1990

THOMPSON, L. U. Review paper: Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. **Food Research International**. 26:131-149, 1993

TREVIÑO, J., ORTIZ, L., CENTENO, C. Effect of tannins from faba beans (*Vicia faba*) on the digestion of starch by growing chicks. **Animal Feed Science and Technology**. 37:345-349, 1992

VALLE-VEJA, P., NIETO-VILLALOBOS, Z., ALVAREZ-RIOS, J., *et al* Efectos del envejecimiento acelerado sobre factores antinutricionales en frijol (*Phaseolus vulgaris*). **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**. 10(1):1-22, 1990

WELCH, R., HOUSE, W., BEEBE, S., CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 48(25):3576-3580, 2000

WHITAKER, J. Enzymes. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3.ED. New York: Marcel Dekker, Inc. 1996. p. 431-530

WU, W., WILLIAMS, W. P., KUNKEL, M. E., ACTON, J. C., HUANG, Y., WARDLAW, F. B., GRIMES, L. W. True protein digestibility and digestibility corrected amino acid score of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington DC. 43(5):1295-1298, 1995

WU, W., WILLIAMS, W. P., KUNKEL, M. E., ACTON, J. C., HUANG, Y., WARDLAW, F. B., GRIMES, L. W. Thermal effects on net protein ratio of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science and Agricultural**. 71:491-495, 1996

ZIENA, H.M, YOUSSEF, M. M., EL-MAHDY, A. R. Amino acid composition and some antinutritional factors of cooked faba beans (medamnins): Effects of cooking temperature and time. **Journal of Food Science**. 56(5):1347-1349, 1991

CAPÍTULO 3

EFEITOS DE DIFERENTES VARIEDADES DE FEIJÃO NA GLICEMIA E NO PERFIL LIPÍDICO EM RATOS

Resumo

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.) é uma fonte de nutrientes, principalmente para populações de países em desenvolvimento. Os antinutrientes encontrados nessa leguminosa têm sido considerados como tendo tanto efeitos adversos quanto benéficos para a saúde. O presente estudo objetivou avaliar o efeito de três variedades de feijão (Ouro Branco, Diamante Negro e Talismã) na glicemia e no perfil lipídico em ratos.

Um lote de 80 ratos Wistar com peso médio de 190g, foi inicialmente dividido em 2 grupos de 40 animais. Um deles recebeu tratamento com estreptozotocina via intraperitoneal, na dose de 50 mg/kg de peso corpóreo. Após 72 horas os ratos do mesmo grupo receberam uma segunda dose de 25 mg/kg de peso corpóreo, via veia peniana. Os animais não tratados corresponderam ao grupo controle. Após o período de adaptação de sete dias com dieta comercial, ambos grupos, tratado e não tratado, foram subdivididos em 4 lotes de 10 animais, para compor os grupos experimentais. O primeiro recebeu dieta de caseína e os outros três receberam dietas cujo teor de caseína foi substituído, em base seca, por 30% de cada uma das variedades

de feijão. Os animais foram mantidos a 26°C e ciclo claro-escuro de 12 horas, por 28 dias. No décimo terceiro dia após o início do tratamento, os grupos de caseína, Diamante Negro e Talismã receberam uma terceira dose de estreptozotocina de 50 mg/kg de peso corpóreo via intraperitoneal. O tratamento com estreptozotocina elevou os níveis de glicose do grupo de caseína em 29% em relação a seu controle, e as dietas de feijão apresentaram aumento dos níveis glicêmicos de 33, 22 e 17% em relação a seus respectivos controles para as variedades Ouro Branco, Talismã e Diamante Negro. No grupo tratado, as dietas de feijão Diamante Negro e Talismã promoveram redução ($p < 0,05$) de glicose de 40 e 33% respectivamente, em relação ao grupo de caseína. Redução de glicemia também foi observada nos ratos não tratados, não sendo porém significativa. Entre as variedades de feijão, os ratos tratados alimentados com feijão preto apresentaram melhores níveis de hemoglobina glicosilada, porém não significativo em relação ao grupo de caseína. Além destes parâmetros, o feijão preto também reduziu significativamente os níveis de triacilgliceróis e colesterol total. O feijão Talismã apresentou valores semelhantes ao feijão preto. Isso sugere que a presença de fatores antinutricionais como os taninos podem estar contribuindo na redução da glicose e de lipídios sanguíneos.

Introdução

Segundo previsões divulgadas pela Organização Mundial da Saúde, nos próximos 25 anos o número de diabéticos pode dobrar em todo o mundo. Serão 370 milhões de pacientes (WHO, 2003). Os diabéticos no Brasil passarão de 4,6 milhões em 2000 para 11,3 milhões em 2030, um aumento de 148,3% em apenas 30 anos. Dados bastante preocupantes quando comparados com o aumento de número de diabéticos no mundo todo de 109,6%, portanto, inferior ao do Brasil.

Atualmente no mundo, de cada 20 mortes, uma é atribuída ao diabetes (WHO, 2003). No Brasil, pelo menos 14,67% da população com mais de 40 anos pode ser de diabéticos. Isso significa que 3 milhões, dos quase 20

milhões de brasileiros testados nos centros de saúde de todo o País, apresentam glicemia acima do recomendável (Ministério da Saúde, 2003).

A doença tradicionalmente ligada a países ricos, está se tornando mais comum nos países em desenvolvimento, por causa do aumento da expectativa de vida e de adoção de hábitos como má alimentação e o sedentarismo.

O diabetes mellitus é uma desordem metabólica caracterizada por hiperglicemia crônica associada com deficiência relativa ou absoluta na secreção ou função da insulina (Chethan et al, 2002).

O controle do diabetes envolve diversos fatores, como terapia com insulina, hipoglicemiantes orais, atividade física e dieta. Dentre os componentes da dieta, as fibras alimentares podem alterar o trânsito e a morfologia intestinal, reduzindo a absorção de glicose, e conseqüentemente melhorando o quadro fisiopatológico do diabetes (Areas et al, 1996; Chethan et al, 2002).

O consumo de alimentos ricos em fibras tem sido eficaz na redução dos níveis séricos de colesterol total, e, conseqüentemente, na redução de doenças cardiovasculares da população em geral (Glore et al, 1994). No entanto, o efeito da fibra alimentar sobre o controle glicêmico ainda não é claro (Manisha et al, 2002; Woo et al, 2003).

Os feijões constituem uma boa fonte de fibra alimentar, especialmente fibra solúvel (Kutos et al, 2003). Além de prover quantidades significativas de proteínas, ácidos graxos insaturados, minerais e vitaminas, eles são fonte de fitatos, taninos, lectinas, inibidores de amilase e saponinas os quais correlacionam inversamente com a digestão de carboidrato e a resposta glicêmica (Anderson et al, 1999).

Por isso, torna-se importante avaliar o efeito das variedades de feijão Ouro Branco, Diamante Negro e Talismã na glicemia e no perfil lipídico de ratos diabéticos, levando em consideração que cada variedade apresenta suas próprias características. Assim, a cor do feijão, que influencia a presença dos taninos na casca do grão, tem sido associada à baixa digestibilidade das proteínas e, ao mesmo tempo efeitos benéficos na glicemia. Os resultados obtidos poderão auxiliar na condução de modificações genéticas visando o melhoramento da leguminosa, com cultivares de maior valor nutricional e

funcional, fornecendo um melhor balanço de seus nutrientes, tanto no estado de saúde quanto na doença.

Materiais e Métodos

Animais, dietas e desenho experimental

Oitenta ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*) adultos, oriundos do Biotério do centro de Ciências Biológicas e da Saúde (Universidade Federal de Viçosa, Brasil), com massa corporal variando de 190 a 200g, foram utilizados neste estudo. Os ratos foram divididos aleatoriamente em oito grupos de dez animais e mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com fotoperíodo de 12 horas e temperatura média de 26°C, com acesso livre a água e uma dieta comercial por 7 dias antes do início do experimento.

Após período de adaptação de dois dias e em estado de jejum de 16h, quarenta animais receberam por via intraperitoneal, uma dose de 50mg/kg de peso corpóreo de estreptozotocina (SIGMA *Chemical Company*, St. Louis, MO) diluída em 100 µL de solução salina 0,9%, pH 5,3. Após três dias, foi determinada a glicemia com auxílio de glicosímetro (Accu-Chek *Advantage*), colhendo-se uma gota de sangue, por fissura da cauda, sobre a fita de dosagem. Tendo alcançado o estado diabetogênico nos animais, foi aplicada uma segunda dose, via veia peniana, de 25mg/kg de peso corpóreo diluída em 50 µL de solução salina 0,9%, pH 5,3. Após dois dias da segunda injeção, foi novamente medida a glicemia. Não sendo eficaz a segunda dosagem, os ratos foram mantidos sob estas condições até a metade do experimento, quando receberam uma terceira dose intraperitoneal de 50 mg/kg de peso corpóreo diluída em 100 µL de solução salina. Quatro animais alcançaram níveis glicêmicos (mg/dL) superiores a 100 (n=1) e a 200 (n=3), correspondendo estes ratos aos que receberam dieta de caseína. Os animais com glicemia acima de 200 mg/dL morreram 3 dias após a injeção. A terceira dosagem somente foi fornecida para os animais com dietas de caseína, Diamante Negro e Talismã por não contar com quantidade de droga suficiente.

Além da glicemia, foram observadas a ingestão de água, de ração, e grau de umidade da forração das gaiolas, a fim de se detectar sinais de polidipsia, polifagia e poliúria, respectivamente.

As variedades de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*), Ouro Branco e Diamante Negro foram fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizada em Goiânia, e a variedade Talismã foi fornecida pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Estas variedades foram recém colhidas e armazenadas em freezer por 4 meses até o início do experimento.

Os grãos foram submetidos à cocção em água, na proporção de 1:2 (P/V), em panela de pressão durante 40 minutos. O feijão cozido foi seco em estufa com circulação de ar (Fanem, modelo 320-SE) a 65°C, por 12 horas, e em seguida, moído em multiprocessador (Arno).

Após o preparo, determinaram-se os teores de proteína, lipídios, umidade e cinzas de acordo com metodologia da AOAC (1998); o teor de carboidrato foi determinado por diferença.

O desenho experimental foi constituído de 8 tratamentos testes, utilizando-se dietas semi-purificadas, com base em uma adaptação da dieta AIN-93M (Reeves et al, 1993). Os quatro primeiros grupos correspondiam aos animais tratados com estreptozotocina e os seguintes, a seus respectivos controles (não tratados). Cada grupo tratado foi alimentado com uma das seguintes dietas por 28 dias: grupo padrão foi alimentado com uma dieta à base de caseína, e os outros grupos tratados receberam dieta semelhante à padrão, adicionada, em base seca, por 30% de cada variedade de feijão. Os grupos não tratados receberam a mesma dieta que os tratados. As dietas de feijão não foram adicionadas de celulose devido ao alto teor de fibra alimentar desse ingrediente. Os animais receberam água destilada e as respectivas dietas *ad libitum*. A composição das dietas está mostrada na Tabela 1.

O consumo alimentar, a ingestão hídrica e o peso corporal dos animais foram registrados semanalmente. Determinou-se o coeficiente de eficiência alimentar (CEA), que relaciona o ganho de peso (g) pelo consumo alimentar (g).

Nas manhãs dos dias 1º, 7º, 14º, 21º e 28º do experimento, os níveis de glicose foram monitorados por leitura em glicosímetro utilizando sangue obtido

da parte distal da cauda dos ratos, expressando os valores da glicemia em miligramas por decilitro (mg/dL).

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais para o grupo tratado com estreptozotocina e grupo controle

Ingredientes (g/100g)	Dietas ^a			
	CAS	B	P	T
Caseína	14	9,14	9,09	9,22
Farinha de feijão Ouro Branco ¹	-	30	-	-
Farinha de feijão Diamante Negro ¹	-	-	30	-
Farinha de feijão Talismã ¹	-	-	-	30
Maltodextrina ²	15,5	15,5	15,5	15,5
Sacarose ⁴	10,0	10,0	10,0	10,0
Óleo de soja ⁴	4,0	4,0	4,0	4,0
Celulose microfina ³	5,0	-	-	-
Mistura salínica ^{5, *}	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica ^{3, *}	1,0	1,0	1,0	1,0
L-cistina ³	0,18	0,18	0,18	0,18
Bitartarato de colina ³	0,25	0,25	0,25	0,25
Amido de milho (q.s.p.) ⁴	46,57	26,43	26,48	26,35

^a CAS: caseína; B: feijão Ouro Branco; P: feijão Diamante Negro; T: feijão Talismã

¹ Farinha obtida a partir das amostras de feijão analisadas

² Obtido da Tangará – Importadora e Exportadora Ltda.

³ Obtido da Rhoster Indústria e Comércio LTDA

⁴ Obtido no comércio de Viçosa, MG

* Segundo Reeves et al. (1993)

⁵ Elaborado no laboratório do Departamento de Nutrição e Saúde - UFV

Preparo das amostras

No final do experimento, após jejum noturno de 12 horas, os animais foram anestesiados com CO₂, e, após aberturas torácica e abdominal, amostras sanguíneas foram coletas por secção da aorta abdominal em duas alíquotas de aproximadamente 3 mL cada. Uma alíquota foi acondicionada em tubo com anticoagulante para determinação de hemoglobina glicosilada. A outra foi centrifugada a 2368g, em centrífuga FANEM, durante 15 minutos, para a

obtenção do plasma, que foi guardado a -18°C para posterior análise das concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total e triacilgliceróis.

O fígado e pâncreas foram removidos, lavados com solução salina 0,9%, pesados, armazenados em recipientes plásticos e congelados.

Análise dos constituintes sangüíneos

Os constituintes sangüíneos foram analisados por meio de kit de ensaio enzimático comercial utilizado para análise em soro humano.

Através de um analisador multiparamétrico (Alizé Biochemistry, Mod Lisabio B.652), foram determinadas as concentrações (mg/dL) do colesterol total, utilizando o kit da Biomerieux® segundo Allain et al. (1974). O triacilglicerol foi determinado utilizando o kit Bioclin, segundo metodologia de Bucolo & David (1973). Para a análise de glicose foi utilizado o kit Doles Reagentes de acordo com Trinder (1969), citado por Lot e Turner (1975). A hemoglobina glicosilada foi determinada por cromatografia de troca iônica, utilizando o kit Doles.

Análises histopatológicas

As amostras de pâncreas foram removidas cirurgicamente, lavadas com solução salina 0,9%, fixadas em solução de Stefanini (1967) por 48 horas e mantidas em álcool 70%, onde foram mantidas até a inclusão.

As amostras foram desidratadas em série etanólica crescente, clareadas em xilol e incluídas em parafina histológica (Histosec, Merck).

Cortes de $4\mu\text{m}$ de espessura, obtidos em micrótomo rotativo (Reichert-Jung, Multicut 2045), foram corados com tricrômico de Gomori, montados em Entellan e analisados em microscópio de luz (Olympus BX 41).

As fotomicrografias foram obtidas utilizando-se fotomicroscópio Olympus AX 70 e filme kodak Gold 100 ASA.

As preparações e as análises histopatológicas foram realizadas no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral/UFV.

Análise estatística

Para comparação entre os consumos de água e de ração, bem como do peso do corpo dos animais e dos diferentes parâmetros bioquímicos, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste estatístico de Tukey usando o programa SAEG, UFV. Foi considerado como nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

No modelo adotado no presente estudo não se obteve um estado diabetogênico satisfatório com aplicação de estreptozotocina. Após a aplicação da primeira dose houve uma sobrevida de 100% dos animais ($n=40$), porém não foi produzida alteração na glicemia. Este fato também foi observado nos animais que receberam a segunda dose, após três dias da primeira aplicação. Houve uma baixa taxa de sobrevivência dos ratos que alcançaram níveis de glicemia acima de 100 mg/dL, após o recebimento de 3 doses induzidas em dias diferentes e a através de duas vias de aplicação. Observando-se que dos animais ($n=30$) que receberam a terceira dose, após nove dias da segunda dose, três animais apresentaram glicemia acima de 100 mg/dL e apenas um sobreviveu até o final do experimento (Tabela 2).

O fato de não haver alcançado dados clínicos e níveis de glicemia próprios do diabetes pode ser decorrente da instabilidade da droga. Porém acredita-se que a droga produziu uma alteração ao nível fisiológico e bioquímico, o que se refletiu nos diferentes resultados (Tabelas 4 e 5).

Tabela 2. Efeito da dosagem de estreptozotocina sobre a taxa de sobrevivência e taxa de hiperglicemia em ratos

Estreptozotocina (mg/kg pc)	Via de aplicação	% Sobrevivência (n/N)	% Hiperglicemia (> 100 mg/dL, n/N)
50 *	Intraperitoneal	100 (40/40)	0 (0/40)
25*	Veia peniana	100 (40/40)	0 (0/40)
50*	Intraperitoneal	90 (27/30)	3,7 (1/27)

* 1º dose

* 2º dose, após 3 dias da primeira dose

* 3º dose, após 9 dias da segunda dose

Contrariamente a estes resultados, no estudo de Bhor et al. (2003) o diabetes foi induzido em ratos por uma única injeção intraperitoneal de estreptozotocina na dose de 75 mg/kg de peso corpóreo, diluída em tampão citrato 0,1 M pH 5,0. Ratos com níveis de glicemia acima de 300 mg/dL foram considerados diabéticos. No entanto, Ebara (1994) encontrou uma baixa taxa de sobrevivência para hamsters que receberam injeção intraperitoneal de estreptozotocina na dose de 50 a 70 mg/kg de peso corpóreo, dissolvida em 0,05 mol/L ácido cítrico, pH 4,5, mas doses moderadas (30 mg/dL) induzidas intraperitonealmente por 3 dias, resultaram em hiperglicemia crônica (> 200 mg/dL) sem alta taxa de mortalidade (66%).

Avaliando o efeito hipoglicemiante de uma planta nativa, o diabetes foi induzido através de injeção intravenosa - veia da cauda - com estreptozotocina diluída em tampão citrato (0,01M), pH 6,0 na dose de 40 mg/kg de peso corpóreo. Quando os níveis glicêmicos foram iguais ou superiores a 200 mg/dL, iniciou-se o período de tratamento (Damasceno et al, 2002).

Ratos foram considerados diabéticos quando os níveis de glicose foram acima de 250 mg/dL. O diabetes foi induzido via veia da cauda, e a droga foi diluída em 0,05 mol/L de citrato, pH 4,5, na dose de 60 mg/kg de peso corpóreo (Hsu, et al, 2003).

A estreptozotocina é uma mistura de α e β anômeros, alcançando maior estabilidade em pH 4. Acrescenta-se que é um composto altamente instável. Uma mudança da cor, de amarelo para marrom, com efervescência, indica decomposição (Sigma, 1997).

Agarwal (1980) relata que existem diferenças específicas entre as espécies na diabetogênese e mudanças nas enzimas que participam do metabolismo de carboidratos em resposta à administração de estreptozotocina, apresentando a seguinte sensibilidade: ratos > camundongos > cachorro > porco da Índia.

Muitos autores têm investigado o efeito da estreptozotocina no desenvolvimento do diabetes experimental, considerando-a ferramenta particularmente apropriada para estudar a patologia do diabetes natural em humanos (Agarwal, 1980; Bolzán et al, 2002). Acrescentam ainda que várias doses pequenas de estreptozotocina são mais eficazes do que uma única dose de maior concentração (Agarwal, 1980).

Tem-se sugerido que a estreptozotocina age na diabetogênese através da glicose do α -anômero, que atua como carregador da porção N-nitroso-N-metil-ureia levando a uma hipertrofia do complexo de Golgi das células- β , seguida de uma picnosis celular (Agarwal, 1980; Bolzán et al, 2002). Além disso, relata-se que o N-metil-N-nitrosurea da estreptozotocina pode ser responsável pelas oncogêneses no rim, fígado, peritônio e pâncreas do rato (Agarwal, 1980).

Apesar da afinidade da droga pelas células- β , o maior problema é sua alta toxicidade para os rins, acrescentando que uma segunda dose não deveria ser administrada enquanto o nível de proteinúria não cair para zero (Agarwal, 1980). Este mesmo autor apontou que a estreptozotocina pode não ser uma toxina específica para as células- β como até agora tem sido acreditado, relatando que a destruição das células- β e a hiperglicemia levam 24 horas para se manifestarem por si mesmas. Porém, a droga pode sensibilizar camundongos através de endotoxinas letais nas primeiras poucas horas após administração intraperitoneal.

Diante destas evidências, Agarwal (1980) concluiu que a estreptozotocina é eficaz em simular o diabetes juvenil humano em animais experimentais, podendo ser considerada um bom modelo para entender seu comportamento quanto aos aspectos imunológicos, fisiológicos, farmacológicos e bioquímicos.

Com estas considerações, foi avaliado o efeito da adição de três variedades de feijão à dieta correspondente a 30% de seu peso, comparados com a caseína, em ratos tratados com estreptozotocina e ratos sem

tratamento, consumindo dieta por 28 dias. Foram avaliados ganho de peso (GP), consumo alimentar, ingestão hídrica e coeficiente de eficiência alimentar (CEA), níveis de glicose, peso de fígado e perfil de lipídios. A composição centesimal dos feijões está mostrada na Tabela 3.

Tabela 3. Composição centesimal das variedades de feijão (g/100g)

Composição	Ouro Branco	Diamante Negro	Talismã
Proteína	21,65	21,76	21,41
Lipídio	1,31	1,66	1,34
Umidade	11,53	12,6	10,63
Cinzas	3,58	4,01	3,67
Carboidrato	29,31	22,64	62,95
Fibra total ¹	32,62	37,33	-
Fibra solúvel ¹	3,70	3,11	-
Taninos ²	10,73	22,10	17,65

¹ Cruz (2000)

² Cárdenas (2003), dados não publicados, comunicação pessoal. (Equivalente em mg catequina/100 g de feijão).

Ganho de peso, Consumo alimentar, Coeficiente de Eficiência Alimentar e Ingestão hídrica

Não houve diferenças significativas em ganho de peso (GP) e coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) entre as variedades de feijão e destas com relação à caseína, dentro do grupo tratado e não tratado com estreptozotocina ou grupo controle (Figura 1).

Foi observado, nos grupos tratados e não tratados, que dietas de feijão Diamante Negro e Ouro Branco contribuíram com maior ganho de peso e valores semelhantes entre as duas variedades, porém as dietas de caseína e Talismã apresentaram menor ganho de peso, sendo o resultado semelhante entre elas.

Animais tratados, alimentados com dietas de feijão Ouro Branco e Diamante Negro, apresentaram ganho de peso semelhantes mas estatisticamente maiores em relação ao grupo não tratado alimentado com

caseína e feijão Talismã. Isto pode ser atribuído ao fato de que a estreptozotocina não teve efeito citotóxico em níveis desejáveis, sendo refletido em maior ganho de peso dos animais alimentados com dietas de feijão de melhor qualidade protéica.

Constatou-se que as dietas de feijão promoveram ganho de peso equivalente ao grupo de caseína pelo fato dos ratos serem adultos e alimentados com uma dieta de maior teor de proteína, superando as deficiências de aminoácidos indispensáveis e a baixa digestibilidade do feijão.

Os valores da porcentagem do coeficiente de eficiência alimentar das dietas de feijão Ouro Branco e Diamante Negro dos ratos tratados pela droga beta-citotóxica (STZ), foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) que as dietas do grupo não tratado.

Têm sido citados alguns componentes do feijão como responsáveis pela diminuição do valor nutritivo da semente. Treviño et al. (1992) relataram que a adição do extrato de taninos do feijão fava a uma dieta basal reduziram significativamente o ganho de peso, o consumo alimentar e o coeficiente de eficiência alimentar em frangos com 25 dias de idade, que receberam dieta por 3 dias, e foi observada uma correlação significativa entre o nível de taninos na dieta e os parâmetros de desenvolvimento. Deve-se acrescentar que os taninos do feijão não diminuíram a ingestão alimentar de frangos e ratos, porém causaram inibição do crescimento (Carmona et al, 1996).

As quantidades de água e alimento consumidas não diferiram estatisticamente entre os grupos tratado e não tratado, embora fosse esperado, maior consumo no grupo tratado.

É necessário ressaltar que o único animal que sobreviveu após a terceira dosagem da estreptozotocina, com nível de glicemia acima de 100 mg/dL, apresentou ingestões excessivas de água e de ração, associadas à perda ou manutenção do peso, e aumento no grau de umidade da forração das gaiolas acompanhado de odor “orgânico”, chegando ao final do experimento a uma hiperglicemia de 322 mg/dL. Tal fato foi observado ao longo do experimento, correspondendo este animal ao grupo que recebeu dieta com caseína. Durante quatro semanas foram medidos o consumo alimentar, o ganho de peso e a ingestão hídrica, conforme exposto na Figura (1).

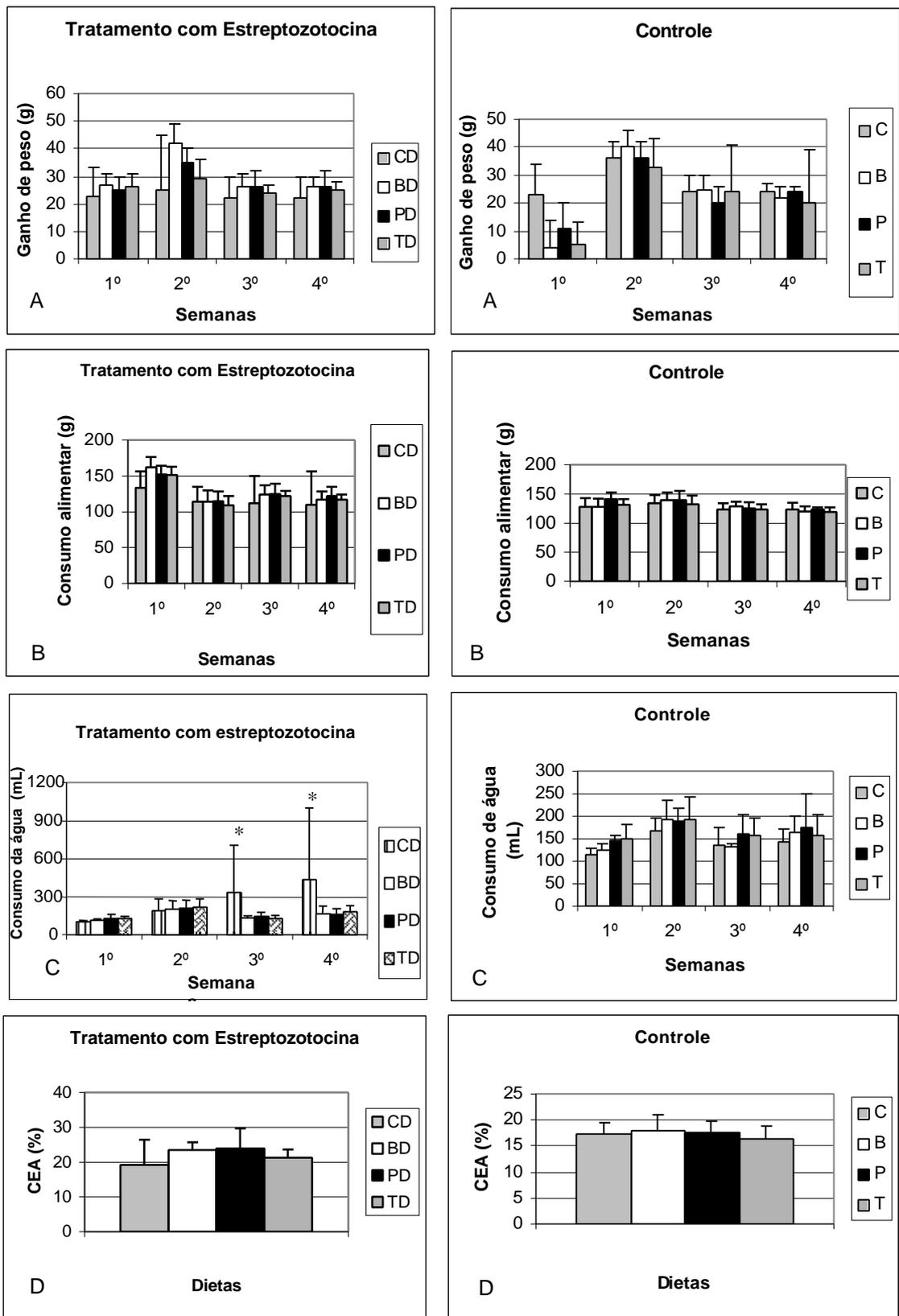


Figura 1 - Médias \pm desvio padrão do ganho de peso (A), consumo alimentar (B), consumo de água (C) e coeficiente de eficiência alimentar (D) dos animais tratados com estreptozotocina e grupo controle (* $p < 0,05$).
 C: Caseína (n = 7); B: Ouro Branco; P: Diamante Negro; T: Talismã

Glicose e hemoglobina glicosilada

Nas determinações de glicose sangüínea por fita, do grupo tratado com estreptozotocina, não houve diferença entre as variedades de feijão, existindo somente com relação à caseína. O grupo não tratado não apresentou diferenças estatísticas (Figura 2).

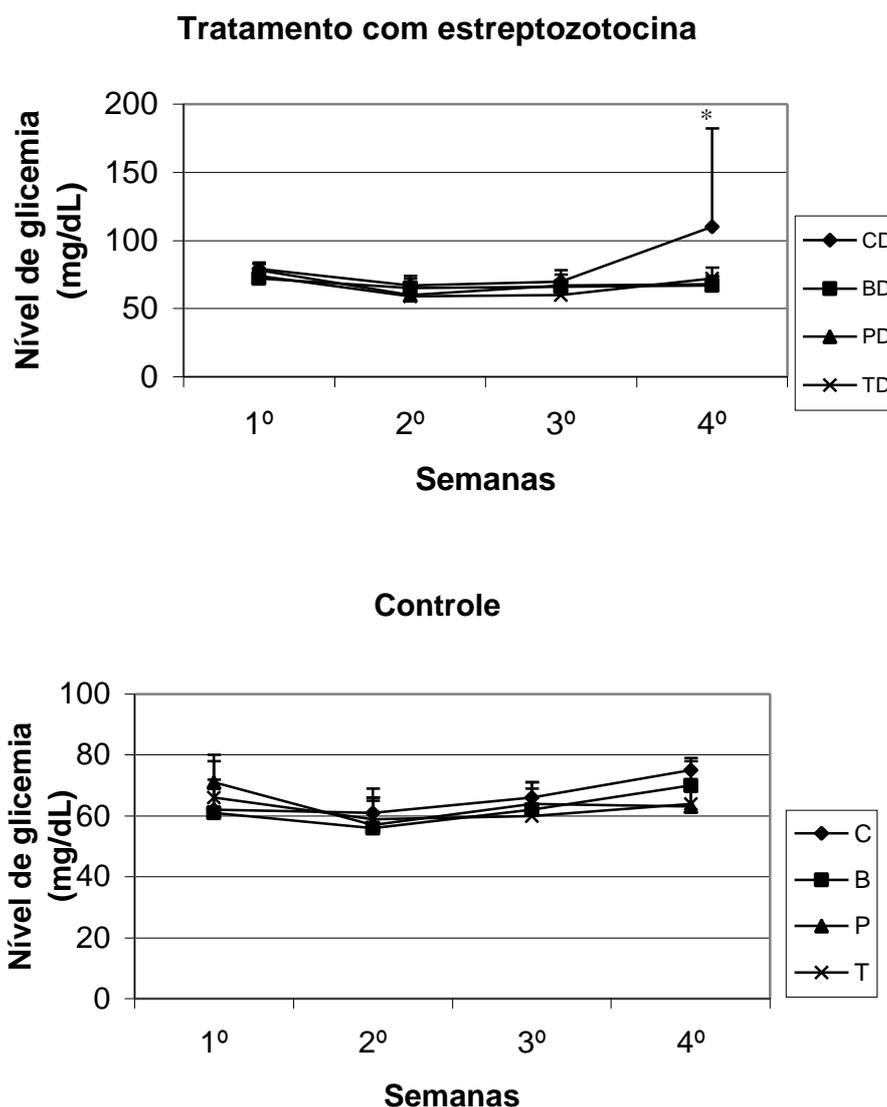


Figura 2 - Glicemia dos ratos tratados e não tratados com estreptozotocina, nas três doses, durante as quatro semanas que receberam as dietas de caseína e feijões (* $p < 0,05$). Valores obtidos por punção sangüínea da cauda dos animais.

Animais tratados com a droga apresentaram diferenças estatísticas de glicemia do soro sangüíneo (determinado por kit), entre as dietas de feijão e destas com caseína (Tabela 4). A estreptozotocina elevou os níveis de glicose do grupo controle em 29% em relação ao grupo padrão, e as dietas de feijão apresentaram aumento dos níveis glicêmicos de 33, 22 e 17% respectivamente em relação a seus respectivos controles para as variedades Ouro Branco, Talismã e Diamante Negro. As dietas de feijão Diamante Negro e Talismã promoveram ($p < 0,05$) redução de glicose de 40 e 33% respectivamente em relação ao grupo controle. Redução de glicemia também foi observada nos ratos não tratados ($p > 0,05$).

Tabela 4. Concentrações de glicose e de hemoglobina glicosilada de ratos alimentados com dietas experimentais após 28 dias (média \pm desvio padrão).

Dietas	GLICF* (mg/dL)	GLICK* (mg/dL)	HbA ₁ * (%)
Caseína ^{1, (**)}	110,20 \pm 72,92 ^a	474,87 \pm 163,23 ^a	4,77 \pm 0,66 ^{ab}
Ouro Branco ¹	67,50 \pm 7,40 ^b	432,36 \pm 143,87 ^{ab}	4,27 \pm 0,3 ^b
Diamante Negro ¹	68,80 \pm 5,31 ^b	283,34 \pm 80,70 ^c	5,27 \pm 1,40 ^a
Talismã ¹	72,90 \pm 8,76 ^b	317,69 \pm 114,88 ^{bc}	4,25 \pm 0,25 ^b
Caseína ²	75,20 \pm 4,85 ^{ab}	335,93 \pm 86,59 ^{abc}	4,17 \pm 0,50 ^b
Ouro Branco ²	70,10 \pm 8,09 ^b	288,28 \pm 63,06 ^{bc}	4,73 \pm 0,43 ^{ab}
Diamante Negro ²	63,80 \pm 5,03 ^b	232,69 \pm 52,80 ^c	4,51 \pm 0,35 ^{ab}
Talismã ²	64,30 \pm 7,53 ^b	247,22 \pm 77,69 ^c	4,66 \pm 0,90 ^{ab}

* As médias (dentro da mesma coluna) seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

** : n = 7

GLICF: Determinação de glicose do sangue integral da cauda por fita

GLICK: Determinação de glicose do soro sangüíneo por kit

HbA₁: Determinação de hemoglobina glicosilada do soro sangüíneo

¹ Dietas de ratos tratado com estreptozotocina

² Dietas de ratos controle

No grupo de animais controle foi observado que as dietas dos feijões Diamante Negro e Talismã influenciaram na redução de glicemia possivelmente pela maior concentração de taninos existentes nesses feijões (Tabela 3). No grupo de animais tratados a dieta de feijão preto reduziu significativamente a glicemia quando comparado com as dietas de feijão branco e caseína. Isto também foi observado para a variedade Talismã, porém apresentando menor redução quando comparado com o feijão preto.

A maioria de fatores antinutricionais presentes nas leguminosas são destruídos, parcialmente durante a cocção. Contudo, os feijões coloridos contêm pigmentos estáveis ao calor, os quais podem ser responsáveis pela baixa digestibilidade do grão. Há ampla evidência experimental no efeito dos taninos sobre a utilização da proteína, porém pouca atenção na sua influência na assimilação de dissacarídeos e amido (Carmona et al, 1996).

Estudos *in vitro* mostraram que α -amilase, maltase, sacarase e lactase foram fortemente inibidos por taninos condensados isolados de feijão preto, acrescentando que estes pigmentos também afetaram a captação de glicose, embora a absorção de glicose tenha sido menos suscetível aos taninos que à hidrólise de amido ou dissacarídeos. Sugerem ainda que os taninos podem aumentar a proporção de amido resistente alcançando o intestino grosso (Carmona et al, 1996). Entretanto, não está bem estabelecido se os taninos afetam a fermentação bacteriana (Carmona et al, 1996).

Contrariamente a estes resultados, a digestibilidade do amido do feijão fava não foi afetada significativamente pela concentração de taninos na dieta, para frangos em crescimento. Argumentar-se que as enzimas digestivas *in vivo* não são suscetíveis à inibição por taninos, posto que muitas outras proteínas estão disponíveis para competir pela mesma ligação (Treviño et al, 1992).

Os taninos do feijão têm sido relatados por inibir fortemente as atividades de α -amilase, tripsina e quimiotripsina pancreáticas (Griffiths, 1981; Carmona et al, 1996), mas acredita-se que além dos taninos outros componentes do feijão possam estar influenciando esses resultados.

A proteína de soja, em comparação à caseína, melhora a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina em ratos (Lavigne et al, 2000). Além disso, a proteína de soja diminui a insulinemia pós prandial em humanos quando comparada com a caseína (Hubbard et al, 1990).

Quando o feijão *navy* foi fracionado para amido, proteína, fibra e frações do soro solúveis e a digestibilidade do amido foi determinada sozinha ou em mistura com um destes compostos, observou-se uma maior redução da taxa de digestão do amido na mistura de amido com a fração de soro solúvel, sendo que a fração de soro solúvel é rica em antinutrientes tais como taninos, lectinas e fitatos (Thompson, 1988). A resposta glicêmica aumentou com a remoção de ácido fítico do feijão *navy* e diminuiu com a sua adição (Thompson et al, 1987).

O mesmo fato foi observado na adição de ácido fítico na farinha de trigo em preparações de pão (Yoon et al, 1983).

Todas estas pesquisas sugerem que o ácido fítico, lectinas, taninos ou inibidores de amilase podem reduzir a resposta glicêmica por influenciar na taxa de digestão do amido. Contudo, a resposta de glicose para um alimento teste com 50g de glicose foi significativamente reduzida quando o 0,8% de ácido fítico estava presente, sugerindo que o ácido fítico também pode exercer seu efeito por outros mecanismos que não envolvam a digestão do amido (Demjen & Thompson, 1991). Yonekura e Suzuki (2003) também relataram efeitos benéficos do ácido fítico na redução de glicose e níveis de lipídeos no sangue.

Ratos tratados com estreptozotocina e que consumiram feijão Diamante Negro apresentaram maior porcentagem de hemoglobina glicosilada (HbA₁), diferindo estatisticamente das outras variedades, não ocorrendo o mesmo com relação à caseína, o que reflete o melhor controle dos níveis de glicose durante a glicosilação (Figura 2). No entanto, todos os valores obtidos situaram-se na faixa dos valores de referência de HbA₁ para não diabéticos ou diabéticos bem controlados, no intervalo de 4,5 a 8% (Doles, 2002).

Há interesse na concentração de glicose no sangue por causa das reações da glicose com o grupo amino das proteínas dos tecidos e plasma, levando à formação de proteínas glicosiladas e alterando a função protéica das moléculas afetadas (Boeing et al, 2000). Lyons (1992) associou a glicosilação do colesterol LDL com diminuição da atividade de seu receptor na captação e catabolismo da fração LDL. As reações de glicosilação também podem causar estresse oxidativo pela geração de radicais livres (Giugliano et al, 1996; Jain e Palmer, 1997).

Colesterol total e triacilgliceróis do soro

Não houve diferença significativa de colesterol sérico entre as variedades de feijão nos ratos tratados (Tabela 5). No entanto, foi observado que as dietas de feijão Talismã, Diamante Negro e Ouro Branco reduziram em 19, 17 e 13% respectivamente o colesterol sérico em relação à caseína. Além disso, foi observado que as dietas de feijão Diamante Negro e Talismã

apresentaram valores semelhantes de colesterol sérico e estatisticamente diferentes em relação a caseína. Contrariamente, os ratos não tratados não apresentaram diferenças, e as dietas de feijão contribuíram com menor redução de colesterol em relação ao grupo tratado.

Tabela 5. Perfil de lipídios do soro sangüíneo (mg/dL) de ratos alimentados com dietas experimentais após 28 dias (média \pm desvio padrão).

Dietas	Colesterol Total *	Triacilglicéris *
Caseína ¹	110,37 \pm 15,98 ^a	268,41 \pm 38,24 ^{ab}
Ouro Branco ¹	95,82 \pm 5,88 ^{ab}	285,33 \pm 27,17 ^a
Diamante Negro ¹	91,77 \pm 7,32 ^b	216,41 \pm 23,66 ^c
Talismã ¹	89,04 \pm 9,39 ^b	227,79 \pm 42,80 ^{bc}
Caseína ²	100,38 \pm 12,83 ^{ab}	249,21 \pm 18,75 ^{abc}
Ouro Branco ²	90,96 \pm 14,74 ^b	232,99 \pm 48,11 ^{bc}
Diamante Negro ²	92,58 \pm 12,43 ^b	233,47 \pm 42,84 ^{bc}
Talismã ²	86,88 \pm 11,35 ^b	240,47 \pm 39,64 ^{abc}

* As médias (dentro da mesma coluna) seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

¹ Dietas de ratos tratados com estreptozotocina

² Dietas de ratos controle

Rosa et al. (1998) relata que os mecanismos de ação hipocolesterolemiantes do feijão não são completamente entendidos, mas algumas hipóteses têm sido propostas, como as que atribuem o efeito às fibras solúveis, saponinas, proteína e taninos.

A importância da proteína alimentar na regulação do metabolismo do colesterol tem sido ressaltada em humanos e ratos (Huang et al, 1993). Muitos autores têm investigado a contribuição da proteína vegetal proveniente da soja bem como de outras leguminosas, na redução dos níveis de colesterol sangüíneo (Jacobucci et al, 2001; Kern et al, 2002; Gilani et al, 2002).

O efeito hipocolesterolemiantes da soja tem sido atribuído a seu perfil aminoacídico. A maior diferença nesse perfil entre a soja e a caseína, é o conteúdo de metionina, o qual representa a metade do teor presente na caseína (Kern et al, 2002). Morita et al. (1997) acrescentaram que a metionina eleva a concentração de colesterol sérico.

Ratos Sprague-Dawley foram alimentados com dietas de isolado protéico de soja e caseína (equivalente a 20% de proteína da dieta), com adição de 1% de colesterol e suplementada com iguais quantidades de

metionina durante 28 dias. Observou-se que o isolado protéico de soja e a caseína não modificaram significativamente o consumo alimentar, ganho de peso e CEA, peso de gordura epididimal e concentrações de HDL-c e TG plasmáticos. No entanto, foi observada uma redução de colesterol de 25% quando comparado com a caseína, sugerindo-se que a suplementação com metionina aumentou a deposição de gordura, mas não eliminou o efeito hipocolesteremiante da proteína de soja (Kern et al, 2002).

Pelos resultados obtidos para as dietas de feijão e caseína, acredita-se que o feijão teve efeito hipocolesteremiante e que, além da proteína, outros componentes do feijão podem estar participando na ação hipocolesteremiante desta leguminosa.

A concentração de glicina no isolado protéico de soja é duas vezes sua concentração em relação ao grão inteiro, e uma elevada proporção de metionina: glicina na caseína poderia ser responsável pelo aumento de colesterol sérico (Morita et al, 1997). Segundo Kern et al (2002), a razão lisina:arginina pode causar maior aumento de colesterol na dieta de caseína, aumentando a sensibilidade à insulina, considerando que esta razão na caseína é duas vezes em relação à proteína de soja.

Várias pesquisas têm sugerido que o efeito hipocolesteremiante das proteínas vegetais, em particular da proteína de soja é amplamente atribuída à maior excreção fecal de esteróis como consequência da redução na absorção intestinal (Nagata et al, 1982; Huff et al, 1980). Sugerindo que peptídeos hidrofóbicos que permanecem após a digestão, podem se ligar aos ácidos biliares e servir como fator de redução de colesterol. O aumento da excreção fecal de esteróis é resultante de maior produção de ácidos biliares do colesterol devido a que a proteína de soja estimula as atividades hepáticas da hidroximetil-glutaril coenzima A redutase – HMG coA redutase, enzima limitante na biosíntese de colesterol e colesterol 7 α -hidroxilase, enzima que converte o colesterol para ácidos biliares (Iwami et al, 1986). Contrariamente, outras pesquisas têm afirmado que o aumento fecal de ácidos biliares não necessariamente resulta em diminuição de colesterol sérico (Yonues et al, 1995).

O efeito hipocolesteremiante da proteína de soja tem sido mais apontado à presença ou ausência de componentes não protéicos (tais como

fibra, ácido fítico, minerais, isoflavonas, taninos), assim como sua natureza e nível de ingestão.

Madani et al. (2000) estudaram o efeito da natureza e nível de proteína (caseína e isolado protéico de soja) sobre o transporte de lipídios, estocagem hepática e defesa antioxidante em ratos Wistar em crescimento, recebendo dieta por 28 dias. Encontraram que a proteína de soja levou a menor ganho de peso e peso de fígado, porém semelhante consumo alimentar e energético, atribuindo este fato ao menor teor de aminoácidos, principalmente metionina e lisina, ressaltando que a concentração de colesterol não foi afetada pela origem da proteína, atribuindo o efeito hipocolesterolemico da proteína de soja a componentes não protéicos existente nesta leguminosa. No entanto, estes resultados foram inconsistentes com as pesquisas de Sjöblom et al. (1991), que encontraram redução de colesterol com proteína de soja (97% proteína cru) quando comparada com a caseína em ratos machos Sprague-Dawley.

Estas diferenças podem ser atribuídas à adição concomitante ou não de colesterol, visto que no estudo de Madani utilizou-se dieta livre de colesterol, porém 1% de colesterol foi adicionado à dieta de Sjöblom (Belleville, 2002).

Outros experimentos encontraram efeito hipocolesteremiante da proteína de soja quando comparada com a caseína e efeito hipercolesteremiante do colesterol exógeno quando ratos foram alimentados com nível acima de 0,25% de colesterol (Eklund e Sjöblom, 1986).

Considerando estes achados, acredita-se que o tratamento com estreptozotocina pode ter levado a um aumento de colesterol sérico e, por conseguinte, um maior efeito do feijão na redução de colesterol em relação à caseína. Embora não tenha havido diferenças significativas entre variedades de feijão, foram observadas diferenças estatísticas nas variedades de feijão com maior teor de taninos (Tabela 3) quando comparada com a caseína, apesar de não apresentar diferenças significativas na digestibilidade protéica, determinada em estudos prévios. Observou-se uma redução de colesterol de 17 e 19% para os feijões Diamante Negro e Talismã, respectivamente.

Rosa et al. (1998) encontraram, para as dietas de feijão preto integral e feijão preto sem casca, uma redução de colesterol de 15 e 35%, respectivamente, em relação ao grupo controle, quando 1% de colesterol mais 0,1% de ácido fólico foram adicionado à dietas. Não encontraram diferenças

significativas entre o feijão integral e o sem casca. Sugeriram que a retirada da casca do feijão pode ter favorecido uma maior absorção dos minerais relatados por possuir ação hipocolesterolemizante, uma vez que fatores antinutricionais interferem negativamente na absorção desses.

Rosa et al. (1998) evidenciaram uma redução significativa nos níveis de HDL-c para as dietas de feijão preto integral e feijão preto sem casca suplementadas com 1% de colesterol mais 0,1% de ácido fólico.

Resultados semelhantes foram encontrados por Rigotti et al. (1989) porém não significativo, do HDL-c em ratos alimentados com dieta de feijão por 10 a 12 dias. Contrariamente, tem relatado que o feijão aumentou o HDL-c em ratos, apesar de ter diminuído o colesterol total e as lipoproteínas de baixa densidade (Costa, 1992).

O consumo de proteína de soja em ratos tem sido associado com um aumento da atividade hepática do receptor apolipoproteína B/E envolvido na captação de lipoproteínas VLDL, IDL e LDL (Davis et al, 1993). Atribuiu-se este resultado ao aumento do conteúdo de ésteres de colesterol no fígado de ratos alimentados com proteína de soja (Belleville, 2002).

Houve diferenças nos triacilgliceróis (TG) do plasma dos ratos tratados, alimentados com as diferentes dietas (Tabela 5). Ratos que consumiram feijão Diamante Negro apresentaram níveis de TG estatisticamente menores que os ratos alimentados com feijão Ouro Branco e caseína, e valores semelhantes em relação à dieta de feijão Talismã.

Não houve diferenças estatísticas de TG entre os animais não tratados e alimentados com as diferentes dietas.

Acredita-se que os níveis de triacilgliceróis tenham sido influenciados pelos taninos presentes no feijão. Assim, o elevado teor de taninos das variedades Diamante Negro e Talismã contribuíram para a redução de triacilgliceróis dos ratos tratados com estreptozotocina.

Experimentos usando a proteína de soja como parte da dieta, com ou sem adição de colesterol em concentrações de 0,1%, não afetaram a concentração de triglicérides e colesterol plasmático (Madani et al, 1998).

De maneira geral tem sido sugerido que a fibra alimentar apresenta uma pequena contribuição para redução de colesterol. Acrescenta-se que a maioria de estudos relatam efeitos em tempos curtos, 3 meses ou menos (Brown et al,

1999 citado por Birketvedt et al, 2002). Porém, poucos estudos apresentam informações do efeito da fibra sobre os lipídios séricos em tempos longos (Birketvedt et al, 2002).

Os feijões estão entre os poucos alimentos que contêm quantidades significativas, tanto de fibra alimentar solúvel quanto de insolúvel. A fibra solúvel, sendo a principal responsável pela diminuição na absorção de colesterol, atua através de vários mecanismos, inclusive interferindo com a formação de micelas e com as interações entre enzimas e substratos, além da sua capacidade de retenção de água (Hughes, 1991).

Suplementação dietética de 150 mg de extrato de feijão *kidney white northern* misturado com 25 mg de goma de feijão *locust* foram avaliados sobre o perfil lipídico de sujeitos obesos e com sobrepeso durante 3 e 9 meses. Os resultados mostraram redução de colesterol sérico aos 3 meses, porém, não mais redução aos 9 meses. HDL-c, LDL-c e triacilgliceróis não apresentaram mudanças aos 3 meses, porém LDL-c e a relação LDL/HDL diminuíram, enquanto os triacilgliceróis não apresentaram mudanças (Birketvedt et al, 2002).

Tem sido relatado também que a redução da glicemia e o aumento da insulina, utilizando dietas com altos teores de fibra solúvel podem diminuir a síntese de triacilgliceróis hepático (Jenkins et al, 1980).

Considerando as determinações de fibra solúvel feitas por Cruz (2000), para as mesmas variedades de feijão em estudo, e não existindo diferenças entre os níveis de fibra solúvel, acredita-se que as fibras não tiveram efeito significativo na redução de colesterol, nos níveis de triacilgliceróis e glicose sangüínea entre os grupos tratados e não tratados.

Outro componente, de interesse do feijão são as saponinas, capazes de diminuir as concentrações de colesterol do plasma e reduzir o risco de doença cardíaca em razão do aumento da excreção de ácidos biliares e esteróides neutros (Chiaradia e Gomes, 1997).

A média de peso dos fígados de ratos tratados alimentados com as diferentes dietas não apresentaram diferenças significativas, possivelmente devido a droga não ter induzido satisfatoriamente a doença.

Efeito da estreptozotocina sobre o pâncreas endócrino

Pela análise histopatológica do pâncreas (Figura 3) foi constatado que a estreptozotocina não levou a um estado diabetogênico nos ratos, verificado pela presença das células- β pancreáticas. O animal com hiperglicemia do grupo controle, foi o único rato que apresentou destruição das células- β .

Acredita-se que a droga não foi suficientemente tóxica para destruir as células β e por conseguinte produzir uma hiperglicemia.

Tem-se relatado que a regeneração anormal de todas as células- β no pâncreas, possivelmente auxiliado pela hiperglicemia, pode levar à formação de adenomas dessas células. Assim, a tumorigênese pode ser principalmente o resultado de uma longa sobrevivência das células- β após estreptozotocina (Agarwal, 1980). Contudo, em outras condições de longa sobrevivência não houve a formação de tumores (Agarwal, 1980).

A este respeito, tem sido relatado que as lectinas do feijão, aglutinina do *Phaseolus vulgaris*-PHA, apresentaram atividade antitumoral em linfomas acúticos de camundongos (Abdullaev e Mejía, 1997). Acrescentou-se que camundongos alimentados com dieta que continha lectina PHA e que foram infectados intraperitonealmente com células EAC ou Krebs II, desenvolveram ascite mais devagar quando comparados com camundongos que receberam dieta controle (Bardocz et al, 1994; Pusztai et al, 1993).

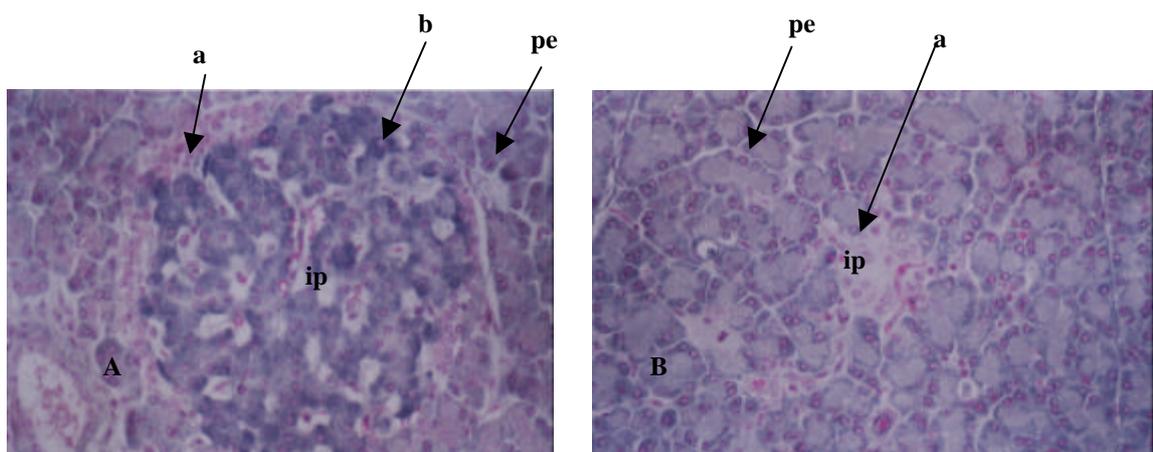


Figura 4 - Pâncreas de ratos tratados com estreptozotocina. A-Ilhota pancreática não afetada pelo tratamento; B-Ilhota pancreática apresentando somente células α . pe = pâncreas exócrino; ip = ilhota pancreática; a = célula α ; b = célula β . Coloração: tricrômico de Gomori. 480X

Conclusões

Apesar da estreptozotocina, sob três aplicações com duas diferentes dosagens, não ter sido eficaz em degenerar as células β e, por conseguinte, não promover hiperglicemia em ratos, induziu alterações em diferentes parâmetros bioquímicos.

As dietas de feijão promoveram redução dos níveis de glicose, colesterol e triacilgliceróis plasmáticos nos ratos que receberam tratamento com estreptozotocina, observando-se diferenças entre variedades de grão e destas com relação à caseína.

Acredita-se que os taninos tiveram um papel importante nestes resultados. Portanto, a presença deste composto, assim como de outros antinutrientes, devem ser cuidadosamente avaliadas.

Torna-se necessário estimular o consumo deste alimento já que houve, nas últimas três décadas, no Brasil, uma diminuição de seu consumo.

Referências Bibliográficas

ABDULLAEV, F. I., MEJIA, E. G. Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion.** 47(3):195-202, 1997

AGARWAL, M. K. Streptozotocin: Mechanisms of action. **Febs Letters.** 120(1):1-3, 1980

ALLAIN, C. C., POON, L. S., CHAN, C. S., RICHMOND, W., FU, P.C. Enzymatic determination of total cholesterol. **Clinical Chemistry.** 20:470-475, 1974

ANDERSON, J. W., SMITH, B. M., WASHNOCK, C. S. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. **American Journal of Clinical Nutrition.** 70(suppl):464S-474S, 1999

AREAS, M. A., REYES, F. G. R. Fibras Alimentares: 1. Diabetes mellitus. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. **Cadernos de Nutrição**. 12:1-8, 1996

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16 ed. 1998

BARDOCZ, S., GRANT, G., DUGUID, T. J., BROWN, D. S., SAKHI, M., PUSZTAI, A. J., PRYME, I. F., MAYER, D. & WAY, B. K. Phytohaemagglutinin in the diet induces growth of the gut and modifies some organ weights in mice. **Medicine and Science Research**. 22:101-103, 1994

BELLEVILLE, J. Hypocholesterolemic effect of soy protein. **Nutrition**. 18(7/8): 684-685, 2002

BEYNEN, A. Comparison of the mechanisms proposed to explain the hypocholesterolemic effect of soybean protein versus casein in experimental animals. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**. 36:S87-S92, 1990

BHOR, V.M., RAGHURAM, S., SIVAKAMI, S. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. 36:89-97, 2004

BIRKETVEDT, G.S, TRAVIS, A., LANGBAKK, B., FLORHOLMEN, J. R. Dietary supplementation with bean extract improves lipid profile in overweight and obese subjects. **Nutrition**. 18:729-733, 2002

BOEING, H., WETSGERBER, U. M., JECKEL, A., ROSE, H. J., KROKE, A. Association between glycated hemoglobin and diet and other lifestyle factors in a nondiabetic population:cross-sectional evaluation of data from the potsdam cohort of the European Prospective Investigation into cancer and Nutrition Study. **Americam Journal of Clinical Nutrition**. 71:1115-1122, 2000

BOLZÁN, A. D., BIANCHI, M. S. Review: Genotoxicity of streptozotocin. **Mutation Research**. 512:121-134, 2002

BROWN, L., ROSNER, B., WILLET, W. W., SACKS, E. M. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**. 69:30-, 1999

BUCOLO, G., DAVID, H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. **Clinical Chemistry**. 19:476-482, 1973

CARMONA, A. SEILD, D. S., JAFFE, W. G. Comparison of extraction methods and assay procedures for the determination of the apparent tannin content of common beans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 56:291-301, 1991

CARMONA, A. BORGUDD, L., BORGES, G., LEVY-BENSHIMOL, A. Effect of black bean tannins on in vitro carbohydrate digestion and absorption. **Nutritional Biochemistry**. 7:445-450, 1996

COSTA, N. M. B. **Investigation into the cholesterol-lowering property of baked beans (*Phaseolus vulgaris*)**. Reading. 200p. Tese (PhD University of Reading), 1992

CHETHAN, M. K., RACHAPPAJI, K. S., NANDINI, C. D., SAMBAIAH, K., SALIMATH, P. Modulatory effect of butiric acid-a product of dietary fiber fermentation in experimentally induced diabetic rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. 13:522-527, 2002

CHIARADIA, A. C. N. **Determinação da estrutura de pigmentos de feijão e estudo da sua ação na qualidade protéica**. Viçosa. MG:UFV.1997. 107p. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, 1997

CHIARADIA, A. C., GOMES, J. C. **Feijão: Química, Nutrição e Tecnologia**. Viçosa:Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180p

CRUZ, G. A. D. R. **Avaliação da qualidade e digestibilidade *in vivo* da proteína de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.)**. Viçosa. MG:UFV. 2000. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidad Federal de Viçosa, 2000

DAMASCENO, D. C., VOLPATO, G. T., RUDGE, M. V. C., TRABALLI, A. L. M., SILVA, C. F., OLIVEIRA, M., MATTOS, IRACEMA, CALDERON, P. Avaliação do efeito hipoglicemiante de *Bauhinia forficata* on experimental diabetes. **Diabetes Clínica**. 6:435-439, 2002

DAVIS, R. A., HYDE, P. M., KUAN, J. C., MALINE- McNEAL, M., ARCHAUBAULT-SCHEXNAYDER, J. Bile acid secretion by cultured rat hepatocytes. Regulation by cholesterol availability. **Journal of Biology Chemical**. 258:3661, 1993

DEMJEN, A. & THOMPSON, L. U. Calcium and phytic acid independently lower the glycemic response to a glucose load. In: **Proc. 34th. Can Fed. Biol. Soc. Meeting. Canadian Federation of Biological Societies**. Ottawa, Canadá. p. 53 (abst.), 1991

DOLES. Dados de Arquivo. 1992

EBARA, T., HIRANO, T., MAMO, J. C. L., SAKAMAKI, R., FURUKAWA, S., NAGANO, S., TAKAHASHI, T. Hyperlipidemia in streptozotocin Hamsters as a model for human insulin-deficient diabetes: Comparison to streptozotocin-diabetic rats. **Metabolism**. 43(3):299-305, 1994

EKLUND, A., SJÖBLOM, I. Effect of dietary protein on hepatic and plasma lipids, and some properties of major plasma lipoprotein fractions during dietary-induced hypercholesterolemia in male rats. **Biochimica et Biophysica Acta – All Sections**. 877:127, 1986

GANGLY, C., DAS, S. Plant lectins as inhibitors of tumor growth and modulators of host immune response. **Chemotherapy**. 40(4):272-278, 1994

GILANI, G. S., NIMAL, R. W., BROOKS, S. P., BOTTING, H. G., PLOUFFE, L. J., LAMPI, B. J. Effects of dietary protein and fat on cholesterol and fat metabolism in rats. **Nutrition Research**. 22:297-311, 2002

GIUGLIANO, D., CERIELLO, A., PAULISSO, G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. **Diabetes Care**. 19:257-267, 1996

GRIFFITHS, D. W. The polyphenol content and enzyme inhibitory activity of testas from bean (*Vicia faba*) and pea (*Pisum spp.*) varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 32:797-804, 1981

HSU, C.S, CHIU, W. C., YEH, S. L. Effects of soy isoflavone supplementation on plasma glucose, lipids, and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced diabetic rats. **Nutrition Research**. 23:67-65, 2003

GLORE, S. R. TREECK, D. V., KNEHANS, A. W., GUILD, M. Soluble fiber and serum lipids: a literature review. **Journal of American Association Dietetic**. 94:425-436, 1994

HUANG, YS., KOBA, K. HORROBIN, DF., SUGANO, M. Interrelationship between dietary protein, cholesterol and n-6 polyunsaturated fatty acid metabolism. **Progress in Lipid Research**. 32:123, 1993

HUBBARD, RW., SANCHEZ, A. Dietary protein control of serum cholesterol by insulin and glucagon. **Monographs on Atherosclerosis**. 16:139-, 1990

HUGHES, J. S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Technology**. 45(9):122-126, 1991

HUFF, MW., CARROLL, KK. Effects of dietary protein on turn-over, oxidation and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. **Journal of Lipid Research**. 21:546-, 1980

JACOBUCCI, H. B., SGARBIERI, V. C., DIAS, N. F., BORGES, P., TANIKAWA, C. Impact of different dietary protein on rat growth, blood serum lipids and protein and liver cholesterol. **Research Nutrition**. 21:905-915, 2001

JAIN, S. K., PALMER, M. The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. Free radic. **Biology of Medicine**. 22:593-596, 1997

1

JENKINS, D. J. A., WOLEVER, T. M. S., TAYLOR, R. H., GHAFARI, H., JENKINS, A. L., BARKER, H., JENKINS, M. J. Rate of digestion of food and post prandial glycaemia in normal and diabetic subjects. **British Journal of Medicine**. 281:14-17, 1980

KERN, M., ELLISON, D., MARROQUIN, Y., AMBROSE, M. MOSIER, K. Effects of soy protein supplemented with methionine on blood lipids and adiposity of rats. **Nutrition**. 18: 654, 2002

KUTOS, T., GOLOB, T., KAE, M., PLESTENJAK, A. Dietary fibre content of dry and processed beans. **Food Chemistry**. 80:231-235, 2003

LAVIGNE, C., MARETTE, A., JACQUES, H. Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**. 278:E491, 2000

LYONS, T. J. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. **Diabetes**. 41(suppl):67-73, 1992

LOTT, J.A., TURNER, K. Evaluation of Trinders glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. **Clinical Chemistry**. 21(12):1754-1760, 1975

MADANI, S., PROST, J., BELLEVILLE, J. Dietary protein level and origin (casein and highly purified soybean protein) affect hepatic storage lipid transport, and antioxidative defense status in the rat. **Nutrition**. 16:368-, 1998

MADANI, S., LOPEZ, S., BLOND, J. P., PROST, J., BELLEVILLE, J. Highly purified soybean protein is not hypocholesterolemic in rats but stimulates cholesterol synthesis and excretion and reduces polyunsaturated fatty acid biosynthesis. **Journal of Nutrition**. 128:1084-, 1998

MADANI, S., PROST, J., BELEVILLE, J. Dietary protein level and origin (casein and highly purified soybean protein) affect hepatic storage, plasma lipid transport, and antioxidative defense status in the rat. **Journal of Nutrition**. 16:368-375, 2000

MANISHA, C., GARG, A., LUTJOHANN, D., BERGMANN, K., GRUNDY, S. M., BRINKLEY, L. J. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**. 342:1392-1398, 2003

MINISTERIO DE SAÚDE. Campanha Nacional para detectar a diabetes, 24-30/11/2003.

MORITA, T., OH-HASHI, A., TAEKI, K. et al. Cholesterol lowering effects of soybean, potato, and rice proteins depend on their low methionine contents in rats fed a cholesterol-free purified diet. **Journal of Nutrition**. 127:470-, 1997

NAGATA, Y., ISHIWAKI, N., SUGANO, M. Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. **Journal of Nutrition**. 112:1614-, 1982

PUSZTAI, A. J., EWEN, S. W. B., GRANT, G., BROWN, D. S., STEWART, J. C., PEUMANS, W. J., VAN DAMME, E. J. M. & S. BARDOCZ. Antinutritive effects of wheat-germ agglutinin and other N-acetylglucosamine-specific lectins. **British Journal of Nutrition**. 70:313-321, 1993

REEVES, P. G., NIELSEN, F. H., FAHEY, C. G. AIN_93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **American Institute of Nutrition**. 3166:1939-1951, 1993

RIGOTTI, A., MARZOLO, MP., ULLOA, N., GONZALES, O., NERVI, F. Effect of bean on biliary lipid secretion and on hepatic cholesterol metabolism in the rat. **Journal of Lipids Research**. 30:1041-1047, 1989

ROSA, C. O. B. et al. Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L.) sem casca na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. 48:299-305, 1998

SIGMA. Streptozotocin mixed anomers. **Sigma quality control or supplier information**. Sigma No. S0130, 1997

SJÖBLOM, L., EKLUND, A., HUMBLE, L., MENSCHILK-LUNDIN, A. OSTLUND-LINDQVIST AM. Plasmaa very low density lipoprotein from male rats fed casein or soybean protein diets: a comparison of fatty acid composition and influence on prostanoid production. **Journal of Nutrition**. 121:1705, 1991

STEFANINI, M., De MARTINO, C., ZAMBONI, L. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. **Nature**. 216(14):173-174, 1967

TREVIÑO, J., ORTIZ, L., CENTENO, C. Effect of tannins from faba beans (*Vicia faba*) on the digestion of starch by growing chicks. **Animal Feed Science and Technology**. 37:345-349, 1992

THOMPSON, L. U. & GABON, J. E. Effect of lectins on salivary and pancreatic amylase activities and the rate of starch digestion. **Journal of Food Science**. 52:1050-1053, 1987

THOMPSON, L. U. Antinutrients and blood glucose. **Food Technology**. 42:123-132, 1988

THOMPSON, L. U. Review Paper: Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. **Food Research International**. 26:131-149, 1993

WOO, K. K., CHUNG, M. K., KANG, N. E., KIM, M. H., PARK, O. J. Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. 14:166-172, 2003

WHO. World Health Organization, 2003. Disponível em www.bbcbrasil.com 4/11/2003

YONEKURA, L. SUZUKI, H. Some polysaccharídes improve zinc bioavailability in rats fed a phytic acid-containing diet. **Nutrition Research**. 23:343-355, 2003

YOON, J. H., THOMPSON, L. U. & JENKINS, D. J. A. The effect of phytic acid on in vitro rate starch digestibility and blood glucose response. **American Journal of Clinical Nutrition**. 38:835-842, 1983

YOUNES, H., LEVRAT, MA., DEIGNE, C., REMESY, C. Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid-lowering agent in the rat. **Lipids**. 30:847-, 1995

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diferentes variedades de feijão tiveram influência na qualidade protéica, glicemia e perfil de lipídios de ratos.

No estudo de qualidade protéica foi mostrado o potencial do feijão como fonte de proteína, apresentando o feijão Ouro Branco, melhor desempenho nutricional a diferença do BRS Radiante, que obteve menor valor. Entretanto, o colesterol total e os triacilglicerois foram afetados pela dieta de caseína acrescida de feijão Diamante Negro, quando os animais foram tratados com estreptozotocina, apesar de não haver alcançado o estado diabetogênico.

Acredita-se que as diferenças no comportamento de feijão tenham sido influenciadas pela cor do grão, devido à localização dos taninos na casca, assim como a presença de outros fatores antinutricionais presentes no grão.

Foi mostrado que as proteínas de feijão por serem de origem vegetal não são eficazes na promoção de crescimento de ratos, refletindo-se no menor ganho de peso e digestibilidade destes animais quando comparado com a caseína de origem animal. No entanto, no estudo de glicemia onde se trabalhou com ratos adultos, as dietas de feijão promoveram ganho de peso equivalente ao do grupo de caseína. Além disso, o teor de proteína da dieta foi superior, podendo haver superado as deficiências de aminoácidos essenciais e a baixa digestibilidade do feijão. Neste mesmo estudo foi observado que o feijão promoveu menores valores de glicose e lipídios que a caseína.

Desta maneira, o consumo das diferentes variedades de feijão poderá ser recomendado considerando as demandas nutricionais da população. Portanto, há necessidade de se obter maior informação da concentração de fatores antinutricionais no feijão e sua interação com outros componentes do grão. São necessários mais estudos de dose-resposta para se determinar o nível em que eles produzem benefícios sem causar efeitos adversos. Considerando que vários fatores antinutricionais do feijão têm os mesmos efeitos na redução de riscos de câncer e doenças cardiovasculares, estudos para determinar os efeitos sinérgicos e antagonistas de misturas destes antinutrientes são também de interesse.